

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : 190/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière : Sciences Biologiques**
Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

DEBBI Souad & SAADI Meriem

Thème

***Isolement, identification et étude de la résistance des souches
d'Escherichia coli isolées dans différents services de l'hôpital
de Lakhdaria***

Soutenu le : 07 /07/ 2019

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom

Grade

Mr. MAHDJOUR Malik Mohamed

MAB.

Univ. de Bouira

Président

Mm. BENBARA Tassadit

MAA

Univ. de Bouira

Promotrice

Mr. REMINI Hocine

MCB

Univ. de Bouira

Examinateur

Année Universitaire : 2018/2019

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a aidés et menés vers le chemin du savoir

Nous adressons notre remerciement à nos familles pour leurs apports affectifs et leurs sacrifices. Nous remercions aussi Mme

TASSADIT BENBARA l'encadreur de notre mémoire : pour l'effort fournis et pour ses précieux conseils, sa confiance et sa persévérance dans la suivi, tout au long de la réalisation de ce travail. Nos vifs pour les membres du jury à commencer par Mr MAHDJOUB qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.

A Mr REMINI d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous adressons également nos remerciements, à tous nos enseignants, qui nous ont données les bases de la science.

A Mr ALI MAIDI et Mr TOUBAL H les cheffes service De laboratoire et toutes personnes de laboratoire pour leurs aide au sein de stage.

A toute personne qui participé de prés ou de loin pour l'accomplissement de notre travail.

Meriem & Souad

Dédicaces

*Au nom d'Allah le plus grand merci lui revient de nous
avoir guidé vers le droit chemin.*

Je Dédie ce travail.

*A mes cher parents ; Mohammed & Djamila symboles de sacrifice, de
tendresse d'amour. Je vous remercie pour tout le
soutien et l'amour que vous me portez depuis mon
enfance et j'espère que votre bénédiction*

M'accompagne toujours.

*A mon chère frère GHANO qui été comme mon deuxième père et m'a
soutenu tout au long de ma vie.*

A mon chère marie Mourad pour ça patience et encouragement.

A mes grands-mères et mon grand père ALI.

A mes tentes surtout Linda .

*A mes chers frères : Hadi , Merzak, Saidaali , Oussama
et chers sœurs : Sarah , Ikram et Amel.*

Mes vifs remerciements

A mes très chères amies : Iman, Khadidja, Nesrine, Souad, Zahra, Linda...

ET Les petites poussins Wissam, Malek, Mosaab et momouh

A tous ma famille maternelle et paternelle.

A tous ce qui me sont chères.

A Mon chère ~~binôme~~ Souad.

Saadi Meriem

Dédicaces

*Au nom d'Allah le plus grand merci lui revient de nous
avoir guidé vers le droit chemin.*

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail à:

*Ceux que j'ai tant aimé avec beaucoup d'affection et je suis très fière de les
avoir et tout les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour et le respect
que je leur porte:*

*Mes très chers parents : Hadda et Rabah (rabi yarhamhome) symboles de
sacrifice, de tendresse d'amour pondant ma vie de l'enfance.*

A mes chers frères surtout ALI et chers sœurs

A mon chère marie Omar Tahraoui pour ça patience et encouragement .

A mes très chères amies : Sarah, Meriem, Khadidja et Linda.

A tous ma famille maternelle et paternelle.

A tous ce qui me sont chères.

A Mon binôme Meriem.

Debbi Souad

ADH : Arginine dehydrolase .

AMP : Ampécilline.

AMX : Amoxicilline.

AP : Acide pépimédique.

ATB : Antibiotique.

BLSE : β -lactamase à spectre étendu.

Ch F :Chirurgie femme.

Ch H : Chirurgie homme.

CL : Colistine.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

COT : Co-trimoxazole.

CTX : Céfotaxime.

CZ : Céfazoline.

E.coli : *Escherichia coli*.

ECB du pus : Etude cyto bactériologique de pus.

ECBU : Etude cyto bactériologique des urines.

EHEC : *Escherichia coli* entérohémorragique .

EIEC : *Escherichia coli* entéro-invasive.

EMB : Eosine-bleu de méthylène.

EPEC : *Escherichia coli* entéro pathogène .

ETEC : *Escherichia coli* entérotoxinogène.

ExPEC : *Escherichia coli* pathogènes extra-intestinaux.

GEI : gastro-entérites infantiles.

GEN : Gentamycine.

Glu : Glucose.

GN : Gélose nutritif.

Gram- : Gram négatif.

H₂S : Sulfure d'Hydrogène.

HUS : Syndrome urémique hémolytique.

I : Intermédiaire.

Ind : Indole.

IU : Infection urinaire.

K : Kanamycine.

Lac : Lactose.

LDC : Lysine décarboxylase.

LT : Thermolabile.

Man : Mannitol.

MAT : Maternité.

MIH : Médecine interne homme.

MIF : Médecine interne femme.

NIT : Nitroxoline.

NMEC : *Escherichia coli* associées à la méningite néonatale.

ODC : Ornithine décarboxylase.

ONPG : Ortonitrophénylgalacto-pyranoside.

PED : Pédiatrie.

pH : Potentiel Hydrogène.

PLP : Protéine liant les pénicillines.

PU : Pavillon d'urgence.

R : résistante.

S : sensible.

SEPEC : *Escherichia coli* associées à la septicémie.

SLT : Shiga-like toxine.

ST : Thermostable.

STX : Shiga toxines.

TOB : Tobramycine.

TSI : Triple Sugar Iron .

UPEC : *Escherichia coli* uropathogènes.

Figure 01 : Observation d' <i>Escherichia coli</i> après coloration de Gram sous microscope optique (Grossissement, x 100)	03
Figure 02 : Ordre chronologique de l'apparition des différentes classes d'antibiotiques en usage clinique	11
Figure 03 : Mode d'action des antibiotiques	13
Figure 04 : une bactérie en cours de transformation	15
Figure 05 : la conjugaison bactérienne. Micrographie électronique de deux cellules d' <i>E.coli</i> à un stade précoce de conjugaison	15
Figure 06 : β -lactames substrats des β -lactamases, clivage de la molécule antibiotique	16
Figure07 : Représentation d'une β -lactamase dans l'espace périplasmique	17
Figure 08 : Représentation de porine bactérienne	17
Figure 09 : La Galerie biochimique classique avant l'incubation à 37 C _o pendant 24h .	24
Figure 10 : Observation des urines à l'état frais sous microscope optiques (Gx40).....	29
Figure 11 : Aspect macroscopique des souches d' <i>Escherichia Coli</i> sur milieu EMB ...	29
Figure 12 : observation des souches d' <i>Escherichia Coli</i> après coloration de Gram sous microscope optique G x 100	30
Figure 13 : La Galerie biochimique classique après l'incubation à 37 C _o pendant 24h...	30
Figure 14 : Répartition des résultats des prélèvements	31
Figure 15 : Répartition d' <i>Escherichia coli</i> selon la nature de prélèvement	31
Figure 16 : Répartition des IU à <i>Escherichia coli</i> selon Le sexe	32
Figure 17 : Répartition de l'infection de pus à <i>Escherichia coli</i> selon Le sexe	33
Figure 18 : Répartition des souches d' <i>Escherichia coli</i> isolés selon la tranche l'âge..	33
Figure 19 : Répartition d' <i>Escherichia coli</i> isolées selon les services	34
Figure 20 : Résultat d'Antibiogramme d' <i>Escherichia coli</i>	35
Figure 21 : Sensibilité d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques	35

Tableau I : Classification d' <i>Escherichia coli</i>	02
Tableau II : Quelques caractéristiques du genre <i>Escherichia</i>	04
Tableau III : Classification des antibiotiques	12
Tableau IV : le matériel et les milieux utilisés	20
Tableau V : la liste des antibiotiques testés	28
Tableau VI : Résultats du profil biochimique d' <i>E. Coli</i> en galerie classique	30

LISTES DES TABLEAUX DES ANNEXES

Tableau I : Les prélèvements effectués durant notre stage.
Tableau II : Compositions des milieux de cultures.
Tableau III : Les réactifs et les colorants utilisés.
Tableau IV : Les diamètres de résistance d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques.
Tableau V : Sensibilité d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques
Tableau VI : Valeurs critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibitions pour <i>E. coli</i> .
Tableau VII : Répartition des résultats des prélèvements.
Tableau VIII : Répartition d' <i>Escherichia coli</i> isolés selon la nature de prélèvement.
Tableau IX : Répartition d' <i>Escherichia coli</i> isolées selon les services.
Tableau X : Répartition des IU à <i>Escherichia coli</i> selon Le sexe.
Tableau XI : Répartition de l'infection de pus à <i>Escherichia coli</i> selon Le sexe.
Tableau XII : Répartition des souches d' <i>Escherichia coli</i> isolés selon la tranche l'âge.
Tableau XIII : Sensibilité d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques.

Liste des abréviations**Liste des figures****Liste des tableaux****INTRODUCTION 01****SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE****Chapitre I : *Escherichia coli***

1. Habitat.....	02
2. Classification.....	02
3. Caractères bactériologique.....	03
3.1. Caractères morphologiques	03
3.2. Caractères cultureux	03
3.3. Caractères biochimiques	04
3.4. Structures antigéniques	05
4. Pouvoir pathogène	05
4.1. Les infections	05
4.1.1. Infections extra-intestinales	05
4.1.2. Infection intestinale	06
4.2. Les facteurs de virulence	07
4.2.1. Capsule	07
4.2.2. Les adhésines	07
4.2.3. Des protéines de la membrane externe et le LPS	08
4.2.4. Des systèmes de captation du fer : Les sidérophores	08
4.2.5. Des toxines	08
5. Mode de transmission	08
5.1. Transmission alimentaire	08
5.2. Transmission par le contact direct avec les animaux de ferme et leur environnement	08
5.3. Transmission inter – humaine	09
5.4. Transmission hydrique	09

Chapitre II : Antibiotiques et résistances

1. Les antibiotiques	10
1.1. Historique	10
1.2. Définition	11

1.3. Classification des antibiotiques	11
1.4. Mécanisme d'action	13
2. La résistance bactérienne	13
2.1. Définition	13
2.2. Types de résistance	13
2.2.1. Résistance naturelle	13
2.2.2. Résistance acquise.....	14
2.3. Support de la résistance	14
➤ Les résistances chromosomiques	14
➤ les résistances extra chromosomiques	14
2.4. Mécanisme génétique de transmission de résistance	14
2.4.1. Les mutations	14
2.4.2. Les recombinaisons génétiques chez les bactéries.....	15
➤ La transformation	15
➤ La conjugaison	15
➤ La transduction	16
2.5. Mécanismes de résistance aux antibiotiques	16
2.5.1. Inactivation ou dégradation des antibiotiques par des enzymes	16
2.5.2. Modification de la perméabilité de la membrane	17
2.5.3. Modification de la cible de l'antibiotique	18
2.5.4. Protection de la cible par une protéine	18

PARTIE PRATIQUE

Chapitre III : Matériels et méthodes

1. Renseignements accompagnant le prélèvement	19
2. Matériel	19
2.1. Matériel biologique	19
2.2. Appareillage	19
3. Prélèvement et acheminement	20
3.1. Prélèvement du pus	20
3.2. Prélèvement d'urine	20
4. Méthode de diagnostic	21
4.1. Etude cytobactériologique du pus	21
➤ Examen direct	21

➤ La mise en culture	21
4.2. Examen cytobactériologique des urines (ECBU)	21
➤ Examen macroscopique	22
➤ Examen microscopique	22
➤ Examen macroscopique après culture	22
5. Tests d'identification d' <i>Escherichia Coli</i>	22
5.1. Coloration de Gram	22
5.2. Tests biochimiques	22
➤ Galerie biochimique classique	23
a. Milieu Mannitol-Mobilité	23
b. Le test TSI (milieu triple sucres)	23
c. Citrate de Simmons	24
d. Test de l'urée –Indole	25
e. Test ONPG.....	25
f. Recherche de décarboxylases.....	26
6. L'antibiogramme	27

Chapitre IV : Résultats et discussions.

1. Observation microscopique	29
2. Observation macroscopique	29
✚ Croissance sur milieu d'EMB	29
3. Les tests biochimiques	30
✚ Coloration de Gram	30
✚ La galerie biochimique classique	30
4. Caractéristiques de la population étudiée	31
4.1. Infections urinaires et de pus à <i>Escherichia coli</i>	31
a. Répartition par origine de prélèvement	31
b. Répartition selon le sexe	32
1. Infections urinaires à <i>Escherichia coli</i>	32
2. Infections de pus à <i>Escherichia coli</i>	33
c. Répartition selon l'âge	33
d. Répartition selon les services	34
5. Sensibilité d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques	34
5.1. Antibiogramme	35

CONCLUSION 37

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LES ANNEXES

Résumé

Abstract

INTRODUCTION

Depuis longtemps, les infections microbiennes occupent la première place dans les pathologies humaines, ils sont dus à l'action des agents pathogènes qui se développent au sein d'un tissu ou d'un organe. En effet, l'examen microbiologique est la meilleure solution pour les identifier (**Kariuki et Corkill, 2007**).

Escherichia coli est la bactérie la mieux étudiée et le microorganisme expérimentales de choix pour beaucoup de microbiologistes. Cette bactérie majeure de colon humain et des animaux à sang chaud est très utile pour l'analyse de la contamination fécale. Par ailleurs, c'est la bactérie la plus fréquemment impliqué dans les infections urinaires. Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales (**Bourjilat, 2009**).

Escherichia coli est un bacille à Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobactériaceae*. *Escherichia coli* peut être un redoutable pathogène pouvant provoquer des maladies sévères, non seulement au niveau du tractus intestinal mais aussi dans d'autres systèmes comme le système urinaire, nerveux ou sanguin (infections extra intestinales) (**Pfeifer, Cullik et Witte, 2010**).

Il est devenu nécessaire de connaître la bactérie, de bien maîtriser ses mécanismes de résistance, ainsi que de tester son comportement vis-à-vis des antibiotiques afin d'apporter une solution thérapeutique et une fin à ce fléau.

Dans le cadre de la surveillance et de la lutte contre l'émergence et la dissémination d'*E. coli* dans les pathologies humaines, nous nous sommes intéressés à isoler, identifier et déterminer la résistance d'*E. coli* au niveau du laboratoire de microbiologie de l'hôpital d'AMEUR OUAMRANE à Lakhria wilaya de Bouira vis-à-vis de quelques antibiotiques. Et cela, dans l'objectif d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques de cette bactérie isolée. A fin de développer de cette objectif, Nous avons adopté la méthodologie suivante :

- Prélèvements urinaires et de pus.
- Isolement et identification d'*Escherichia coli*.
- Etude de la sensibilité de cette bactérie aux antibiotiques.



PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I:
Escherichia coli

Escherichia coli (*E. coli*) est un type de coliforme fécal faisant partie des bactéries trouvées dans les intestins humains et d'animaux à sang chaud. La plupart des *Escherichia coli* sont inoffensifs et ont une fonction utile dans le corps en arrêtant la croissance des espèces bactériennes nuisibles et en synthétisant des vitamines nécessaires (vitamines K), qui aide à la coagulation sanguine (Avril *et al.*, 2000). Cependant, elles peuvent être des pathogènes opportunistes, tandis que d'autres peuvent causer la maladie gastro-intestinale chez des individus sains quand elles sont ingérées. *Escherichia coli* est présent dans le gros intestin, donc elle est aussi présente dans la matière fécale des humains et des animaux. (Chalmers *et al.*, 2000).

En 1885, Theodor Echerich (1857-1911) découvre un bacille qu'il dénomma bactérium coli commun dans des selles de nourrissons. (Shulman *et al.*, 2007). En 1904, cette même bactérie a été isolée dans un cas d'infection urinaire et en 1919, Castellani et Challmers donnent le nom d'*Escherichia coli* à cette bactérie (Benjamin, 2008).

1. Habitat

Escherichia coli ou « colibacille » est un organisme commensal naturellement présent dans le tractus intestinal, étant le microbe le plus important de cette région de l'organisme humain. Il représente près de 80 % de la flore intestinale aérobie de l'adulte. Elle se retrouve également au niveau de diverses muqueuses chez l'homme et chez les animaux (Wislon *et al.*, 2002). Les *Escherichia coli* n'existent pas normalement dans l'eau et le sol. Leur présence est un indicateur de contamination fécale (Pellegrims, 1994).

2. Classification

L'espèce *Escherichia coli* fait partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle a été caractérisée sur les plans phénotypique, biochimique et physiologique. Aujourd'hui, ce sont des techniques basées sur l'utilisation de l'ADN qui permettent une étude génétique des populations et la caractérisation des différentes souches d'*Escherichia coli* (Boulhbal, 2009).

Tableau I : Classification d'*Escherichia coli* (Boulhbal, 2009).

Règne	Procaryotae
Domaine	Bacteria
Phylum	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Enterobacteriale
Famille	Enterobacteriaceae
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

3. Caractères bactériologiques

3.1. Caractères morphologiques

Bacille à bout arrondi, Gram-, mesure approximativement 2 à 4 μm de Longueur sur 0.6 μm de largeur, ne possédant ni capsule ni spores, elle se présente isolé ou en courtes chaînettes, et en quelque cas, sous forme de très long filaments. Pourvu de cils, elle est généralement mobile grâce à une ciliature péritriche mais cette mobilité est très variable selon le milieu où la souche a étéensemencée (Boulhbal, 2009).

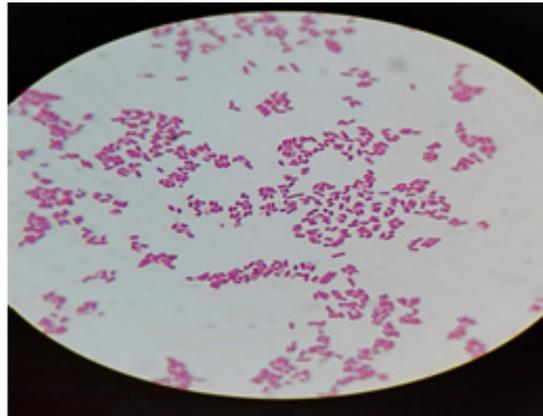


Figure 01 : Observation des souches d'*Escherichia coli* après coloration de Gram sous microscope optique (G x 100).

3.2. Caractères cultureux

La culture d'*Escherichia coli* est très facile avec une grande tolérance de variation de pH, pH optimum 7,5, température optimum de 37 °C mais pousse entre 15 °C et 45 °C. Il résiste bien à la chaleur : incubé à 45 °C, il fermente le glucose, le mannitol et le lactose avec production importante de gaz (Delarras, 2010).

La gélose EMB (éosine-bleu de méthylène), préconisé originalement par Levine, est utilisée pour isoler et identifier *Escherichia coli* et *Enterobacter*, ainsi que les bactéries intestinales à Gram négatif dans les produits pharmaceutiques, les produits laitiers et les autres produits alimentaires. Elle est également employée pour le contrôle des eaux comme milieu d'isolement et d'identification après culture en milieu liquide (Delarras, 2014).

3.3. Caractères biochimiques

Quelques-uns des tests biochimiques les plus communément utilisés sont le type de fermentation formique, l'utilisation du lactose et du citrate, la production d'indole à partir de tryptophane, l'hydrolyse de l'urée et la production de sulfure d'hydrogène, pour identifier le genre *Escherichia*. (Gavini *et al.*, 1980)

Tableau II: Quelques caractéristiques du genre *Escherichia*.

Caractéristiques	<i>Escherichia coli</i>
ONPG	+
Oxydase	-
Rouge de méthyle	+
Voges-Proskauer	-
Production d'indole	+ (généralement présent)
Utilisation de citrate	-
Production de H ₂ S	-
Uréase	-
Béta-galactosidase	+ (généralement présent)
Gaz à partir de glucose	+
Acide à partir de lactose	+
Phénylalanine désaminase	-
Lysine décarboxylase	+ (généralement présent)
Ornithine décarboxylase	+ (généralement présent)
Mobilité	Péritriches si mobiles
Liquéfaction de la gélatine	-
% de GC	48-59

+ : Caractère positif.

- : Caractère négatif.

3.4. Structures antigéniques

L'étude de cette structure antigénique est très utile car certains sérotypes ont un pouvoir pathogène particulier. KAUFMAN a distingué trois variétés d'antigène O, H, K (Dembel, 2006).

4. Pouvoir pathogène

4.1. Les infections

Escherichia coli peut devenir pathogène lors de l'affaiblissement des défenses de l'hôte et/ou suite à l'acquisition d'attribut de virulence. Les souches d'*Escherichia coli* pathogènes sont responsables d'atteintes et d'infections intestinales ou extra-intestinales et sont classées en pathotypes selon les manifestations cliniques engendrées, les facteurs de virulence hébergés et les interactions cellulaires. Il existe deux catégories de pathovars, en se basant sur leur pathogénicité (Munjal, Surendra et Sharm, 2012) :

- Les *Escherichia coli* à l'origine de pathologies extra- intestinales.
- Les *Escherichia coli* à l'origine de pathologies intestinales

4.1.1. Infections extra-intestinales

Les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC), ne sont pas associés aux infections quand ces souches se trouvent dans le tractus intestinal. Cependant lorsqu'elles colonisent des tissus hors de l'intestin, elles peuvent causer des infections importantes (Johnson et Russo, 2002). Les ExPECs peuvent être regroupées en quatre catégories :

- Les *E. coli* uropathogènes (UPEC),
- Les *E. coli* associées à la septicémie (SEPEC),
- Les *E. coli* associées à la méningite néonatale (NMEC)

Les ExPECs possèdent une grande diversité de facteurs de virulence. Les ExPECs semblent avoir été créées par l'accumulation de certains facteurs de virulence dans des souches *E. coli* appartenant aux groupes phylogénétiques B2 et D (Johnson et Russo, 2002).

➤ *E. coli* uropathogènes (UPEC)

Ils sont responsables de la majorité (90%) des infections survenant sur un arbre urinaire normal : cystites, pyélonéphrites. Leur pouvoir pathogène est caractérisé par une adhésion aux cellules uro-épithéliales grâce à plusieurs types d'adhésines et à d'autres facteurs comme l'hémolysine alpha et les sidérophores (Söderström *et al.*, 2008).

➤ ***E. coli* associées à la méningite néonatale (NMEC)**

Les *E. coli* associées à la méningite néonatale (NMEC) provoquent des méningites chez les nouveau-nés, 15 à 40 % des nouveau-nés atteints décèdent. Un nombre important des survivants souffrent de défauts neurologiques graves. Les bactéries sont transportées par voies hématogènes (voies sanguines) (Kaper *et al.*, 2004).

➤ ***E. coli* associées à la septicémie (SEPEC)**

Certains sérotypes d'*Escherichia coli* (K1 en particulier) sont capables d'induire des infections néonatales graves. Ce sont des septicémies éventuellement compliquées de méningites (Ségolène, 2016).

4.1.2. Infection intestinale

Les souches pathogènes d'*Escherichia coli* sont reconnues comme des agents responsables de syndromes diarrhéiques d'origine alimentaire ou hydrique (Andrade *et al.*, 1989). Quatre groupes principaux pathotypes ou pathovars intestinaux sont décrits en fonction des signes cliniques (Lavigne, 2004).

- Les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC)
- Les *E. coli* entérotoxigènes (EPEC)
- Les *E. coli* entéro-invasives (EIEC)
- Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC)

➤ ***E. coli* entérotoxigène (ETEC)**

Les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), fréquemment associées à la "diarrhée du voyageur", sont des souches produisant des entérotoxines : toxine thermosensible (toxines LT), et/ou toxine thermostable (toxines ST). Lors de la colonisation de l'intestin, les entérotoxines provoquent la diarrhée. Les infections aux ETECs sont principalement trouvées chez les voyageurs, les nourrissons et les enfants dans les pays en voie de développement. Elles peuvent aussi être trouvées chez les animaux d'élevage (Germani, 2008).

➤ ***E. coli* entérotoxigène (EPEC)**

A l'origine d'entérites épidémiques antérieurement aussi appelés gastro-entérites infantiles (GEI). Ces *Escherichia coli* étaient une cause majeure de diarrhée chez les nourrissons qui sévissaient dans les maternités, les crèches. Les EPEC colonisent la muqueuse intestinale en adhérant très fortement aux entérocytes intestinaux, produisent des lésions d'attachement et d'effacement caractérisées par la destruction localisée des microvillosités de

la bordure en brosse et en induisant des altérations au niveau du cytosquelette des cellules épithéliales (Riley *et al.*, 1983).

➤ ***E. coli* entéro-invasive (EIEC)**

L'origine de syndromes dysentériques intermédiaires entre les *Escherichia coli* et les *Shigella* dont ils possèdent le pouvoir pathogène, ils provoquent des ulcérations de la muqueuse du gros intestin, d'où la présence de pus et parfois de sang dans les selles (Vial *et al.*, 1988).

➤ ***E. coli* entérohémorragique (EHEC)**

Les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) sont associées aux colites hémorragiques et au syndrome urémique hémolytique (HUS) provoqués par la production de Shigatoxines (Stx). Les EHECs peuvent aussi provoquer une défaillance rénale. Les toxines inhibent la synthèse des protéines et provoquent la mort cellulaire. Les EHECs sont surtout trouvées chez les enfants, mais aussi dans la flore normale bovine. Les EHECs provoquent ce qu'on appelle la "maladie du hamburger" (Kaper *et al.*, 2004).

4.2. Les facteurs de virulence

La définition des facteurs de virulence et la compréhension des mécanismes impliqués dans le pouvoir pathogène des souches d'*Escherichia coli* sont des préalables indispensables à l'évaluation du risque pour la santé publique lié à l'existence de ces pathogènes. Ainsi, la combinaison des facteurs de virulence impliqués dans le pouvoir pathogène des souches restent encore à déterminer. L'étude des facteurs de pathogénicité d'*Escherichia coli* a montré que dans l'espèce, il existe de nombreuses variantes des facteurs (Escobar-Páramo *et al.*, 2006).

4.2.1. Capsule

Elle est de nature polysaccharidique. Il existe 80 variétés immunologiques différentes (antigènes K). La capsule rend la phagocytose plus difficile et inhibe l'action du complément. La capsule de type K1 est peu immunogène (elle a la même structure que la capsule de méningocoque du groupe B). Ce sont les *E. coli* de type K1 qui sont responsables de la majorité des infections néonatales (Naucliel *et al.*, 2007).

4.2.2. Les adhésines

De multiples adhésines ont été décrites. Elles peuvent induire une adhésion à des globules rouges ou à des cellules épithéliales en culture. L'aspect que revêt l'interaction avec les cellules épithéliales peut donner une indication sur le type d'adhésine en cause. La plupart des adhésines se présentent sous forme de fimbriae (Naucliel *et al.*, 2007).

4.2.3. Des protéines de la membrane externe et le LPS

Elles donnent aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte en s'opposant à la fixation du complément (Levine, 1987).

4.2.4. Des systèmes de captation du fer : Les sidérophores

Codé par l'îlot de pathogénicité fournissant aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication, au détriment de la transferrine (Levine, 1987).

4.2.5. Des toxines

Certaines souches peuvent produire une hémolysine, une enterotoxine thermolabile (LT) ou thermostable (ST) ou bien une toxine analogue à la toxine de *Shigella dysenteriae*, la Shiga-like toxine (SLT ou Stx) (Nauciel et al., 2007) et l'endotoxine commune aux entérobactéries (Levine, 1987).

La liste de ces facteurs de virulence potentiels ne cesse de s'allonger mais, à ce jour, leur rôle respectif dans la pathogénie d'*Escherichia coli* n'est pas démontré (Kaper et al., 2004)

5. Mode de transmission

5.1. Transmission alimentaire

Les produits carnés sont à l'origine d'un grand nombre d'infection à *Escherichia coli*. La viande de bœuf constitue la source majeure de contamination suite principalement à une cuisson insuffisante (Baranyi et al., 1995). La viande d'autres animaux de boucherie, ou de volailles a également été mise en cause (Paton et al., 2001).

-Le lait et les produits laitiers non pasteurisés ont également été à l'origine d'épidémie. La voie de contamination du lait actuellement retenue est celle de la contamination à partir des matières fécales de bovins lors de la traite. En effet, les conditions de traite et l'environnement dans lequel elle se réalise jouent un rôle prépondérant dans la contamination du lait (Allerberger et al., 2001).

- Les fruits et légumes crus (salade, radis, épinards, oignons...) peuvent être directement contaminés par l'eau d'irrigation, à partir du sol contaminé suite à l'épandage d'effluents d'élevages ou via l'activité de la faune du sol (Baranyi et al., 1995).

5.2. Transmission par le contact direct avec les animaux de ferme et leur environnement

La transmission d'*Escherichia coli* se fait par un contact direct ou indirect avec des animaux de ferme ou leurs déjections, a été décrite lors de cas sporadiques (O'Brien et al.,

1982). Par ailleurs, le taux de porteurs sains en *Escherichia coli* est plus élevé dans la population vivant en contact permanent avec les animaux (Evans *et al.*, 2000).

5.3. Transmission inter - humaine

La majorité des cas résulte d'une contamination indirecte mise en évidence chez les personnes en contact avec les malades. De plus, cette transmission est d'autant plus importante lorsque l'hygiène générale est mauvaise et que les contacts sont étroits. La transmission oro-fécale est une réelle préoccupation dans les crèches (Sugiyama *et al.*, 2005), les centres de soins journaliers et dans les centres psychiatriques. Ce mode de transmission est aussi responsable de l'extension de l'infection au sein des familles et dans les hôpitaux (Bielaszewska *et al.*, 1997).

5.4. Transmission hydrique

Les épidémies d'origine hydrique sont généralement associées à la consommation d'eau de boisson ou à l'ingestion accidentelle d'eau lors de baignades. Entre 1997 et 2004, le système de surveillance des Etats-Unis rapportait que 6% des épidémies d'origine hydrique étaient liées aux EHEC (Dziuban *et al.*, 2006).

- La consommation d'eau de puits, d'eau de source privée et d'eau de distribution non traitées a été à l'origine de cas isolés d'infection et d'épidémies à *Escherichia coli*.
- L'ingestion accidentelle d'eau lors de baignades dans un lac, ou dans une autre étendue d'eau naturelle (Jackson *et al.*, 1998).

CHAPITRE II: ANTIBIOTIQUES ET RESISTANCES

1. Les antibiotiques

1.1. Historique

La découverte des agents infectieux bactériens se fit à la fin du 19^{ème} siècle et stimula la recherche de traitements appropriés. Ce n'est qu'un siècle plus tard que la découverte des antibiotiques permit de lutter efficacement contre ces infections.

En 1928, Alexander FLEMMING fait une découverte surprenante : la croissance de souches de *Staphylococcus aureus* était inhibée en présence d'une moisissure bleue (du genre *Penicillium*). La pénicilline, substance produite par ces moisissures, venait d'être découverte. Elle fut commercialisée dans les années 1940. Cette molécule d'origine naturelle, très efficace, sauva la vie de nombreux soldats lors de la seconde guerre mondiale.

En 1937, la première molécule antibiotique efficace lancée sur le marché fut le Septoplax® (sulfanilamide) faisant partie de la famille des sulfamides. Ce traitement d'origine synthétique, développé après la découverte de Dogmack sur l'efficacité antibiotique de la sulfamidochrysoïdine, colorant alimentaire, fut utilisé contre les streptocoques. Mais il présentait toutefois des limites en termes de sécurité et d'efficacité (**Saga et Yamaguchi, 2009**)

Le terme « antibiotique » fut proposé en 1941 par Waksman pour désigner toute substance chimique produite par un micro-organisme et capable d'inhiber le développement ou de détruire d'autres micro-organismes (**Andremont et Tibon-cornillot, 2006**)

Les deux décennies suivantes, de nouvelles classes d'antibiotiques n'ont cessé d'être découvertes, synthétisées, et commercialisées. Les années 1950 virent apparaître des molécules telles que la streptomycine (chef de file des aminosides), le chloramphénicol, des tétracyclines, macrolides, ou encore la vancomycine (antibiotique glycopeptidique). En 1962, le premier antibiotique de la famille des quinolones fut synthétisé : l'acide nalixidique (**Saga et Yamaguchi, 2009**).

De 1940 à 2005, la découverte et à la mise sur le marché de nouveaux antibiotiques dont la chronologie est présentée dans la Figure 02.

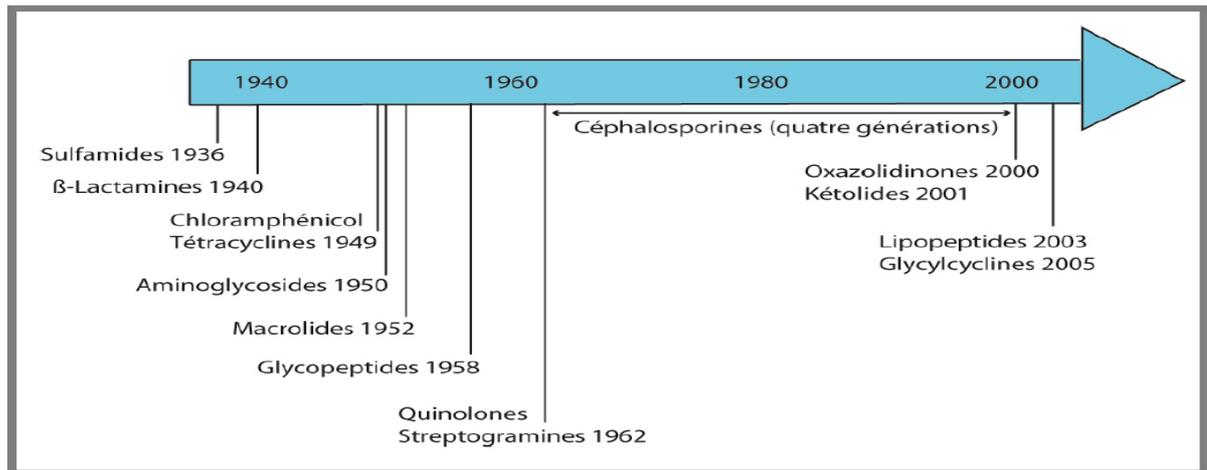


Figure 02: Ordre chronologique de l'apparition des différentes classes d'antibiotiques en usage clinique (Ayad, 2017).

1.2. Définition

Un antibiotique (du grec *anti*, contre et *bios*, la vie) est une substance chimique naturelle ou synthétique, ayant un mode d'action spécifique contre les bactéries. La majorité des antibiotiques sont des molécules naturelles, produites essentiellement par des bactéries ou certains champignons afin d'éliminer les micro-organismes sensibles (effet bactéricide) ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (Kohanski *et al.*, 2010). De plus, il existe des antibiotiques semi-synthétiques, qui sont en fait des antibiotiques naturels modifiés par l'addition de groupements chimiques dans le but de les rendre moins sensibles à l'inactivation par les micro-organismes (Prescott *et al.*, 2010).

1.3. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont classés selon différents critères :

- l'origine de l'antibiotique : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).
- leur mode d'action : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.
- leur spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou spectre large).
- leur nature chimique : très variable, nous permet de classer les antibiotiques en familles (β-lactamines, aminosides, tétracyclines...) (Boulahbal, 2006).

Le tableau suivant regroupe les différents antibiotiques classé en familles selon le dernier critère.

Tableau III : Classification des antibiotiques (Boulhbal, 2009)

Familles	Groupes	Exemples d'antibiotique
Bétalactamines	pénicillines (Les pénames)	Ampicilline Amoxicilline Carbénicilline
	Céphalosporines	Céfazoline Céfoxitine Céftriaxone
	Monobactames	Aztréonam
	Pénèmes	Imipénème Méropénème Ertapénème
	Oxapénames ou clavams (acide clavulanique)	Amoxicilline+Acide clavulanique Ticarcilline + Acide Clavulanique
Tétracyclines	Les cyclines naturelles Les cyclines semi synthétiques	Oxytétracycline -Doxycycline -Glycylcyclines
Quinolones et Fluoroquinolones		Péfloxacin Ofloxacin Norfloxacin Ciprofloxacin
Aminosides		Streptomycine Kanamycine Gentamicine Tobramycine
Polypeptides	Glycopeptides	Vancomycine Teicoplanine
	Polymyxine	Polymixine B Colistine
Phénicoles		Chloramphénicol Thiamphénicol

1.4. Mécanisme d'action

Les antibiotiques peuvent avoir plusieurs éléments de la bactérie comme cible (figure 04)

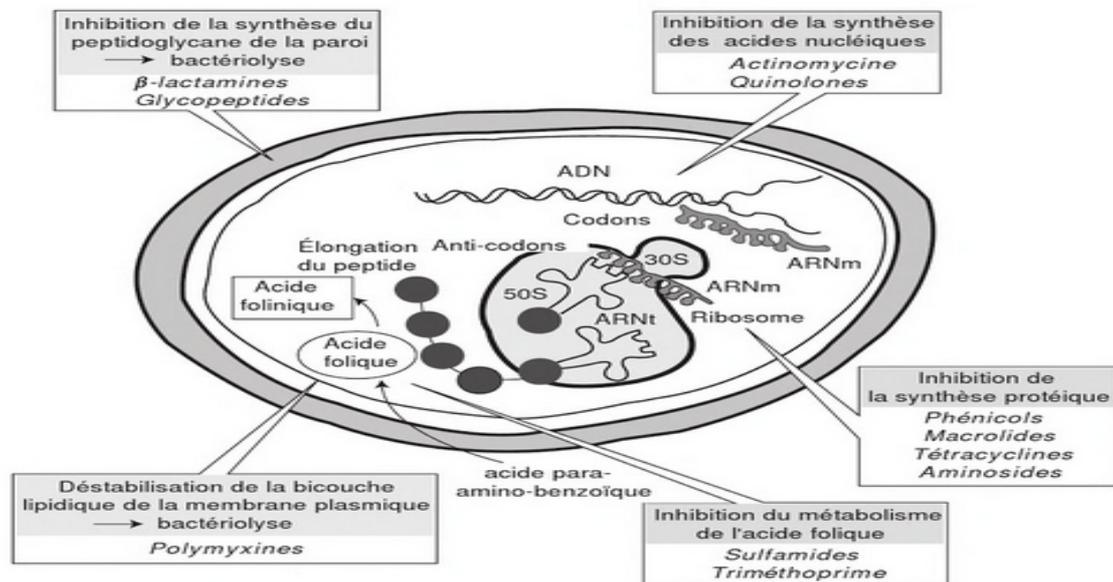


Figure 03 : Mode d'action des antibiotiques (Clos, 2012).

2. La résistance bactérienne

2.1. Définition

La résistance se définit par l'inefficacité de la dose d'antibiotique, la concentration d'antibiotique est très inférieure à la CMI permettant d'arrêter la croissance de la bactérie (Michel-Briand, 2012). Des bactéries, initialement sensibles à un antibiotique, deviennent de plus en plus résistantes. La résistance se signale au clinicien par l'échec thérapeutique : la CMI de la bactérie est très au-dessus de la concentration de l'antibiotique au niveau du site infectieux. Pour le bactériologiste, la résistance commence dès l'augmentation de la CMI par rapport à la CMI initiale. Cette augmentation peut être suffisamment faible pour que la bactérie soit encore éradiquée par le traitement, mais elle doit être surveillée car elle peut être le prélude à une résistance de niveau plus élevé (Michel-Briand, 2009).

2.2. Types de résistance

Il existe deux types de résistance aux antibiotiques, la résistance naturelle et la résistance acquise.

2.2.1. Résistance naturelle

La résistance des bactéries aux antibiotiques peut être naturelle ou intrinsèque. La résistance intrinsèque est l'aptitude innée, universellement présente dans le génome d'une espèce bactérienne, de résister à l'action d'un antibiotique particulier. La résistance naturelle

est encore appelée insensibilité car elle existe chez des bactéries qui n'ont jamais été sensibles à un antibiotique donné. Cette insensibilité naturelle peut être due à l'inaccessibilité de la molécule à l'intérieur de la cellule bactérienne (Moellering *et al.*, 1971).

2.2.2. Résistance acquise

La résistance acquise est un caractère qui ne concerne que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. Elle est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. Elle résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce, et elle a été observée dès le début de l'antibiothérapie (Lozniewski *et al.*, 2010).

2.3. Support de la résistance

2.3.1. Les résistances chromosomiques

Elles sont liées à des mutations de l'ADN chromosomique lors de la réplication. La mutation peut porter sur un point quelconque du métabolisme bactérien. Si elle vient à modifier le site d'action de l'antibiotique, ce dernier devient inactif. On parle alors de mutant résistant. Ces mutations chromosomiques sont rares spontanées (se produisent en l'absence de l'antibiotique), spécifiques, héréditaires et réversibles (Pebret, 2003).

➤ les résistances extra chromosomiques

C'est le mécanisme le plus important, les gènes acquis par la bactérie peuvent être un plasmide ou un transposon. Ces éléments génétiques rendent la bactérie résistante à l'antibiotique par la synthèse de nouvelles protéines. Ces protéines interviennent dans la résistance bactérienne en modifiant la perméabilité à un antibiotique ou en l'inactivant, c'est le cas des enzymes type bêta lactamase (Boulhbal, 2009).

2.4. Mécanisme génétique de transmission de résistance

Il existe deux types de phénomènes génétiques : les mutations et les recombinaisons génétiques

2.4.1. Les mutations : les caractères héréditaires sont conservés et transmis de génération en génération, Ils sont inscrits dans la structure de segments de molécules d'acide désoxyribonucléique ou gènes dont chacun contient l'information nécessaire à la synthèse d'une protéine spécifique. Cette mutation va modifier le produit du gène avec pour conséquence une augmentation des résistances.

Exemple : la β -lactamase TEM en subissant une mutation est devenue chez certaine bactérie une β -lactamase à spectre étendu (BLSE) avec comme propriété de toucher un plus large éventail d'antibiotique que l'enzyme d'origine (Griffiths *et al.*, 2000).

2.4.2. Les recombinaisons génétiques chez les bactéries.

- **La transformation** : certaines bactéries peuvent capter de fragment d'ADN à partir du milieu extérieur. Ceci est un autre moyen pour la bactérie d'échanger leurs gènes. L'ADN peut provenir d'autres cellules de la même espèce ou de cellules d'autres espèces. Dans certains cas, l'ADN est de cellule morte. Dans d'autres cas, l'ADN a été sécrété hors de cellules bactériennes vivantes. L'ADN capté intègre dans le chromosome du receveur. Si cet ADN provient d'un génome différent de celui du receveur, le génotype du receveur peut être changé durablement au cours d'un processus appelé transformation (**Griffiths *et al.*, 2012**).

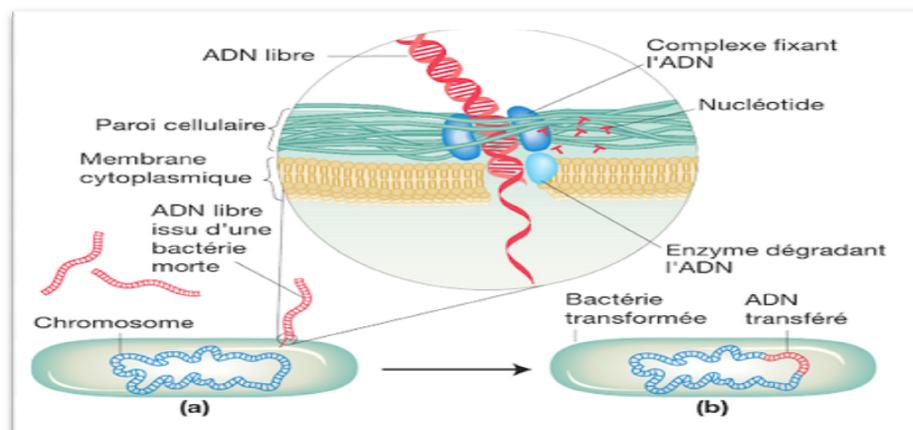


Figure 04 : une bactérie en cours de transformation (**Griffiths *et al.*, 2012**).

- **La conjugaison** : est le transfert de matériel génétique d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice par contact direct entre les deux bactéries. Le matériel génétique transféré peut être chromosomique ou extra-chromosomique (plasmide) (**Boulhbal, 2006**).



Figure 05 : la conjugaison bactérienne. Micrographie électronique de deux cellules d'*E. coli* à un stade précoce de conjugaison (**willey *et al.*, 2017**).

- **La transduction** : est le transfert d'un fragment d'ADN d'une bactérie à une autre par l'intermédiaire d'un bactériophage à ADN bicaténaire. Au moment de la multiplication végétative d'un phage tempéré, un fragment d'ADN bactérien est incorporé dans la capsid avec l'ADN viral et ainsi transmis à une bactérie sensible à ce phage (Boulhbal, 2006).

2.5. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Un antibiotique devra dans un premier temps pénétrer dans la bactérie, ensuite arriver à sa cible et se fixer pour produire son effet : bactéricide ou bactériostatique.

Chacune de ces étapes est un point faible pour l'antibiotique, les mécanismes de résistance sont au nombre de 4 et agissent au niveau de ces étapes :

- Modification de la perméabilité de la membrane.
- Inactivation ou dégradation des antibiotiques par des enzymes.
- modification de la cible de l'antibiotique.
- Protection de la cible par une protéine (Paul Battraud, 2017).

2.5.1. Inactivation ou dégradation des antibiotiques par des enzymes

- **Les β -lactamases** : Ces enzymes catalysent l'hydrolyse de la liaison β -lactame de l'antibiotique. Il s'agit du principal mécanisme de résistance des Gram $-$. Parmi ces enzymes on trouve en premier lieu les pénicillinases. Elles hydrolysent les pénicillines (Clos, 2012).

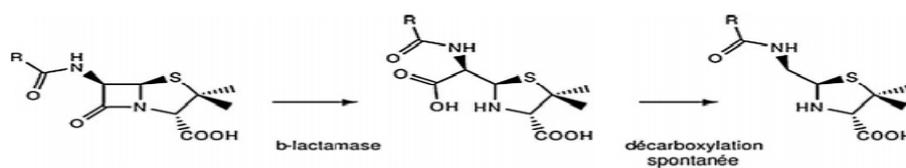


Figure 06 : β -lactames substrats des β -lactamases, clivage de la molécule antibiotique (Paul Battraud, 2017).

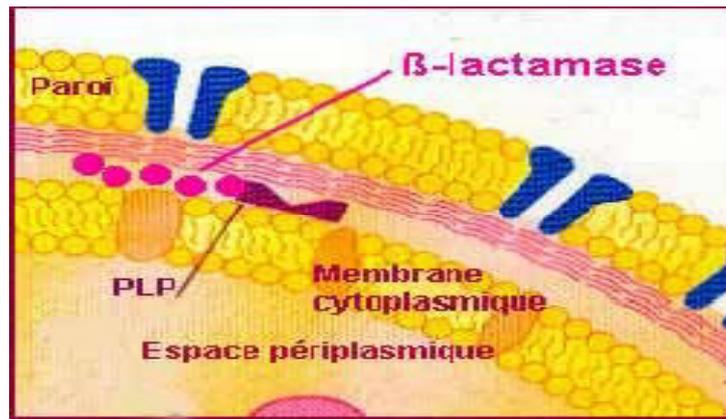


Figure 07 : Représentation d'une β -lactamase dans l'espace périplasmique (Boulhbal, 2010)

- **Les céphalosporinases:** Ce sont des enzymes qui inhibent l'action des céphalosporines mais aussi des pénicillines. On les retrouve principalement dans les bactéries Gram – et sont très souvent retrouvés dans les chromosomes de ces bactéries. Il existe néanmoins quelques céphalosporinases synthétisées à l'aide de plasmide (Jacoby, 2009).

2.5.2. Modification de la perméabilité de la membrane

L'absence ou la faible présence de porine chez les bactéries à Gram – entraîne une imperméabilité aux antibiotiques qui utilise cette voie, il s'agit en fait d'empêcher l'antibiotique d'atteindre sa cible d'action.

Les antibiotiques de la famille des glycopeptides ne peuvent traverser ses porines car leur structure trop importante ne permet pas la traversée, c'est pour cela que les glycopeptides ne sont pas efficaces sur les bactéries à Gram – (Delcour, 2009).



Figure 08 : Représentation de porine bactérienne (Boulhbal, 2010).

2.5.3. Modification de la cible de l'antibiotique

C'est le mécanisme le plus fréquent de résistance. Il ne s'agit pas d'une hydrolyse mais d'une modification des groupements fonctionnels des antibiotiques concernés.

Exemple 1 : La streptomycine possède un unique site de fixation au ribosome ce qui lors d'une modification structurelle de ce dernier, engendre une résistance puisqu'il ne peut plus se fixer dessus (**Ramirez et Tolmasky, 2010**).

2.5.4. Protection de la cible par une protéine.

➤ Protection du ribosome

Les tétracyclines sont visées par ce mécanisme de résistance, il y a fabrication d'une protéine via un gène plasmidique (le gène *tet*) ce qui ne permet plus le bon fonctionnement des tétracyclines sur la bactérie puisque la protéine synthétisée va venir protéger le ribosome bactérien (**Doherty et al., 2000**).



**PARTIE
EXPERIMENTALE**

MATERIELS ET METHODES

Notre étude a porté sur des souches *d'Escherichia coli* isolées et identifiées à partir des prélèvements biologiques d'urine et du pus des patients hospitalisés pendant une certaine période

Nous avons réalisé notre travail au niveau du laboratoire de l'EPH AMEUR OUAMRANE à Lakhdria wilaya de Bouira. Notre étude a porté sur 145 examens cytot bactériologiques des urines (ECBU) et cytot bactériologiques du pus (ECB du pus)

Notre stage a été effectué durant la période de 5 Mars au 5 Mai 2019. Pendant laquelle on a déterminé la sensibilité aux antibiotiques des souches d'*Escherichia coli* isolée à partir de prélèvements biologiques des urines (ECBU) et ECB du pus. Les prélèvements ont été effectués dans différents services essentiellement les services de pédiatrie, de médecine interne homme et femme, d'autres prélèvements ont été également réalisés au niveau des services d'urgence médicale et chirurgicale.

1. Renseignements accompagnant le prélèvement

Les prélèvements reçus au laboratoire sont accompagnés d'une fiche de renseignement qui comporte :

- ✓ Nom et prénom de patient.
- ✓ Age et le sexe du patient.
- ✓ Service d'hospitalisation.
- ✓ La nature de prélèvement

2. Matériel

Dans notre travail on a utilisé le matériel suivant :

2.1. Matériel biologique

- Echantillons d'urine et du pus.
- Souches *d'Escherichia coli* isolées à partir des prélèvements urinaires et du pus des patients.

2.2. Appareillage

Plusieurs appareils et matériels sont utilisés durant ce stage pour effectuer les prélèvements, l'isolement et l'identification des souches isolées.

Tableau IV : le matériel et les milieux utilisés

Matériel utilisés	Milieux de culture solide	Besoin d'identification
Bec bunsen	Milieu de Mueller Hinton	Milieu TSI
Pipettes pasteur	Milieu EMB	Milieu Mannitol mobilité
Boîtes de pétri		Milieu Citrate de Simmons
Etuve		Urée Indole
Distributeurs		Milieux Moëller (témoin,
d'antibiotiques(HIMEDIA).		ODC, LDC, ADH)
Ecouvillon		Kovacs
Microscope optique (OPTICA)		violet de gentiane
Les lames et lamelles		L'alcool
		Lugol
		Fuchsine
		L'eau physiologique
		huile à l'immersion

3. Prélèvement

3.1. Prélèvement du pus

Les prélèvements appelés « pus » englobent toutes les suppurations, qu'elles soient superficielles ou profondes. À côté de ces suppurations primitives, on distingue aussi les suppurations secondaires postchirurgicales ou post-traumatiques.

Les prélèvements de pus sont très divers dans leur localisation anatomique. Ces prélèvements arrivent au laboratoire sous plusieurs aspects : écouvillonnages (furoncles, escarres, morsures), biopsies (cutanées, tissulaires), pièces opératoires, liquides prélevés de préférence à la seringue (liquide péritonéal, etc.). Ces prélèvements de pus sont très fréquents et constituent une grosse part de l'activité d'un laboratoire de bactériologie.

Les prélèvements de pus doivent arriver rapidement au laboratoire (< 2 heures à température ambiante). Les prélèvements doivent arriver au laboratoire en sac hermétique, accompagnés d'une feuille de renseignements cliniques.

3.2. Prélèvement d'urine

La technique de recueil des urines doit être rigoureuse, pour éviter les contaminations qui faussent l'interprétation des résultats.

La réalisation du prélèvement sera confiée au patient adulte ou aux parents de l'enfant, il conviendra donc de leur fournir des renseignements précis. Les urines sont recueillies de préférence le matin en évitant la contamination de l'urine par les germes de l'environnement et en désinfection locale des organes génitaux externes avec une solution antiseptique ou un savon doux, et rinçage soigneux à l'eau. Les premières gouttes d'urine seront éliminées et les 20 à 50 ml suivants seront recueillis dans un pot stérile.

Chez la femme : Le recueil se fait, si possible, en dehors des périodes menstruelles ou d'infection vaginale.

Chez le nourrisson : Après désinfection locale, le prélèvement se fait par la pose d'une poche collectrice stérile adhésive maintenue en place pendant moins d'une heure. Si l'enfant n'a pas uriné, le dispositif est éliminé et remplacé par un collecteur neuf. Dès que le prélèvement est terminé, le collecteur est enlevé et les urines sont transvasées soigneusement dans un flacon stérile puis acheminé rapidement vers le laboratoire.

Afin d'éviter toute prolifération bactérienne, le transport au laboratoire se fera en moins de 2 heures. Sinon conserver au réfrigérateur (maximum 3 heures) à 4 °C.

4. Méthode de diagnostic

4.1. Etude cytot bactériologique du pus

➤ Examen direct

Consiste à un examen cytologique qui est qualitatifs. On évaluera la quantité et l'aspect des polynucléaires, des cellules et, dans le cas de prélèvements contaminés par une flore commensale, on évaluera l'abondance de la flore.

➤ La mise en culture

Du fait de la diversité des bactéries potentiellement impliquées dans les prélèvements de pus, des milieux de culture enrichis (GN) seront nécessaires ainsi que des milieux sélectifs (EMB), notamment pour les prélèvements contaminés par une flore commensale. L'incubation à 37C pendant 24h.

4.2. Examen cytot bactériologique des urines (ECBU)

C'est un examen microbiologique qui permet à la fois de diagnostiquer une infection urinaire en identifiant le germe responsable et d'aider à choisir le meilleur traitement.

C'est l'examen le plus demandé en pratique médicale et son interprétation est relativement facile, en théorie.

➤ **Examen macroscopique**

Cet examen permet de noter s'il y a des modifications des caractères physiques de l'urine comme la couleur, odeur et aspect.

➤ **Examen microscopique**

L'examen cyto bactériologique des urines est un examen microbiologique qui permet à la fois de diagnostiquer une infection urinaire en examinant la forme (cocci, bacillaire) et la mobilité des germes (examen bactériologique) et de déterminer aussi la présence de leucocytes, d'hématies, de cristaux et de levures (examen cytologique).

• **Etat frais**

L'examen direct est réalisé par une homogénéisation de l'échantillon d'urine puis dépôt deux gouttes à l'aide d'une pipette Pasteur sur une lame de verre bien propre, recouverte par une lamelle. L'observation se fait au grossissement 10 x 40

➤ **Examen macroscopique après culture**

Cet examen permet de déterminer la forme et l'aspect des colonies sur boîte de Petri à l'œil nu.

Dans cet examen, le milieu de culture Mueller Hinton a été utilisé pour les bactéries non exigeantes, et l'ensemencement est fait à l'aide d'une pipette bien stérile par stries serrées sur la gélose, ensuite les boîtes ensemencées sont incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. La lecture se fait par l'observation des boîtes à l'œil nu.

5. Tests d'identification d'*Escherichia coli*

5.1. Coloration de Gram

Il s'agit d'une technique qui permet de distinguer les bactéries en fonction de structure de leur paroi.

5.2. Tests biochimiques

Après la purification, l'identification préliminaire des souches a été orientée par les résultats de la coloration de Gram, et par les caractères culturels des souches observés sur les milieux utilisés. Une galerie biochimique a été réalisée pour l'identification de l'espèce

L'identification des microorganismes préalablement isolés et caractérisés sur les milieux d'EMB a été suivie par des tests biochimiques.

La préparation de la suspension bactérienne met en jeu le transfert en condition aseptique, de 1 à 4 colonies bien isolées vers un tube d'eau physiologique stérile.

Cette suspension sert à ensemencer différents milieux de culture en tube permettant ainsi de mettre en évidence les différents caractères biochimiques d'*Escherichia coli*.

Les différents tests pratiqués avec la galerie biochimie classique sont détaillées dans les prochains tableaux.

a. Test de mannitol mobilité

Principe	Aspect du milieu après L'ensemencement	Mode d'ensemencement	Lecture
C'est une gélose molle conditionnée en tube et qui permet simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité.		Ensemencement par piqure centrale jusqu'au fond du tube à l'aide d'une pipette pasteur, incubation à 37°C pendant 18 à 24 h.	Fermentation de Mannitol positive: virage au jaune du tube Présence d'une Mobilité : diffusion de part et d'autre de la piqûre centrale.

b. Test citrate de Simmons

Principe	Aspect du milieu avant L'ensemencement	Mode d'ensemencement	La lecture
Cette recherche est pour identifier des entérobactéries par l'utilisation ou non du citrate comme seule source de carbone.		L'ensemencement se fait à l'aide d'une anse de pipette par une piqûre centrale. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24h	1. Virage de l'indicateur de pH du vert au bleu : il y a eu alcalinisation du milieu et le teste : Citrate de Simonne + 2. Pas de virage de l'indicateur de pH : il n'y pas eu alcalinisation et le milieu ne présente pas de culture : la souche est Citrate-

c. Le test TSI (milieu triple sucres)

Principe	Aspect du milieu avant L'ensemencement	Mode d'ensemencement	Lecture
<p>. Ce milieu permet d'étudier la fermentation de trois sucres (glucose, lactose, saccharose), d'apprécier la production ou non de l'H₂S et de noter la production ou non de gaz à partir du glucose.</p>		<p>La pente est ensemencée par des stries serrées et le culot par piqûre centrale à l'aide d'une pipette pasteur, incubation à 37°C pendant 18 à 24h. Il est important de ne pas oublier de dévisser partiellement le bouchon afin de permettre les échanges gazeux.</p>	<p>Fermentation positive de lactose : virage au jaune de la pente Fermentation positive de Saccharose : virage au jaune de la région médiane. Fermentation positive de glucose : virage au jaune fond du tube Production de gaz : présence de bulle d'air Production d'H₂S : noircissement du tu</p>

d. Test d'urée-indole.

Principe	Aspect du milieu avant L'ensemencement	Mode d'ensemencement	Lecture
<p>Le milieu urée-indole ou urée-tryptophane est un milieu synthétique complexe fournissant un ensemble de résultats utiles à l'identification des entérobactéries. Ce milieu contient de l'urée comme seule source de carbone. Elle permet la recherche de deux activités enzymatiques : L'uréase, et la production d'indole grâce à une tryptophanase.</p>		<p>L'ensemencement se fait par l'ajout de quelques gouttes de la suspension bactérienne à l'urée après une incubation à 37°C pendant 24h on ajoute quelques gouttes de réactif de Kovacs après on fait la lecture des résultats</p>	<p>Production d'une Uréase : coloration rose violette. Production d'indole : apparition d'un anneau rouge à la surface.</p>

e. Test ONPG.

Principe	Caractères recherchés	Aspect du milieu avant L'ensemencement	Lecture
<p>L'otonitrophénylgalactopyranoside (ONPG) est utilisée ; - Une suspension de bactéries est réalisée en eau distillée. - Un disque d'ONPG est déposé dans cette suspension.</p>	<p>galactosidase qui catalyse l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose.</p>		<p>Milieu sans couleur : ONPG - Milieu jaune : ONPG +</p>

f. Recherche de décarboxylases

Principe	Aspect du milieu avant L'ensemencement	Mode d'ensemencement	Lecture
<p>Trois décarboxylases sont fréquemment recherchées : LDC, ODC, ADC Le milieu contient l'acide aminé étudié (soit la lysine, soit l'ornitine, soit l'arginine), du glucose et un indicateur coloré, le bromocrésol pourpre . La réaction s'effectue en deux temps .Lorsque le glucose est fermenté, il ya virage au jaune ,lorsque l'acide aminé est décarboxylé, le milieu vire au violet .</p>		<p>On ensemence le milieu Moeller ADH, ODC, LDC. Avec une goutte de suspension . On crée l'anaérobiose par l'addition de l'huile de vaseline, puis on incube à 37 °C pendant 24h.</p>	<p>Un milieu violet trouble correspond à une réaction positive Virage de couleur en jaune réaction négative</p>



Figure 09 : La Galerie biochimique classique avant l'incubation à 37 °C pendant 24h.

6. L'antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques.

Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci.

Le milieu utilisé est le Mueller-Hinton coulé dans une boîte de Pétri de façon uniforme et jusqu'à une épaisseur de 4mm.

La méthode est la diffusion sur gélose.

g. Technique

- A proximité du bec Bunsen et à l'aide d'une anse de platine stérilisée au préalable prélever un ou deux colonies isolées sur milieu de culture.
- Les déposer dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique, bien mélanger la préparation.
- Inonder la boîte contenant milieu de Mueller- Hinton par la préparation.
- Réaspirer soigneusement à la pipette Pasteur l'excès de suspension ou rejeter dans un Becher d'eau de Javel.
- Sécher le milieu ensemencé pendant 15 minutes à 37C°.
- Appliquer des disques d'antibiotiques à l'aide d'une pince flambée ou distributeur.
- Incuber les boîtes dans l'étuve à 37C° pendant 18 heures.

La lecture doit se faire dans les délais recommandés: 18 à 24 heures. La zone d'inhibition circulaire est mesurée par le diamètre en millimètres à l'aide d'une règle. Il existe trois types

d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible(S), intermédiaire(I) ou résistante(R) est effectuée selon les critères définis par EUCAST 2016 (EUCAST ,2016).

Tableau V: la liste des antibiotiques testés.

Antibiotiques	Abréviation	Charge	Famille	
Ampicilline	AMP	10	Aminopénicilline	Béta lactamine
Amoxicilline	AMX	25		
Céfazoline	CZ	30	Céphalosporine de 1 ^{ère} génération	
Céfotaxime	CTX	30	Céphalosporine 3 ^{ème} génération	
Gentamycine	GEN	10	Aminoside	
Kanamycine	K	30		
Tobramycine	TOB	10		
Co-trimoxazol	COT	25	Sulfamide +diaminopyrimidine	
Nitroxoline	NIT	20	Quinoléine	
Acide Pipémédique	AP	20	Quinolone	
Colistine	CL /CS	25	Polypeptide	

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Observation microscopique

L'examen de l'urine entre lame et lamelle à l'objectif x 40 a permis l'observation des leucocytes, des hématies, des cristaux...

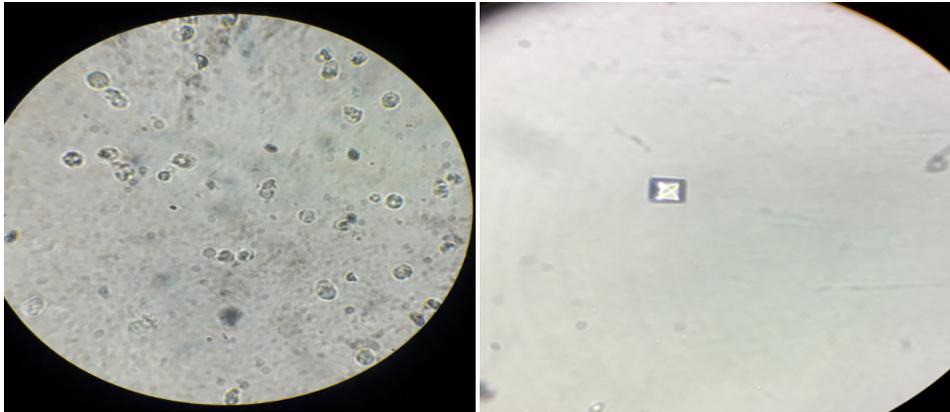


Figure 10 : Observation des urines à l'état frais sous microscope optiques (Gx40)

a: Leucocytes x 40. **b :** Cristaux d'oxalate de calcium.

2. Observation macroscopique

Croissance sur milieu EMB

Les résultats obtenus après 24h d'incubation à 37°C sur le milieu EMB ont montré que les souches d'*Escherichia coli* apparaissent en colonies :

- Colonies violet foncé
- 2 à 3 mm de diamètre
- bombé et sèches
- Un éclat métallique verdâtre
- bien rondes à centre noire.

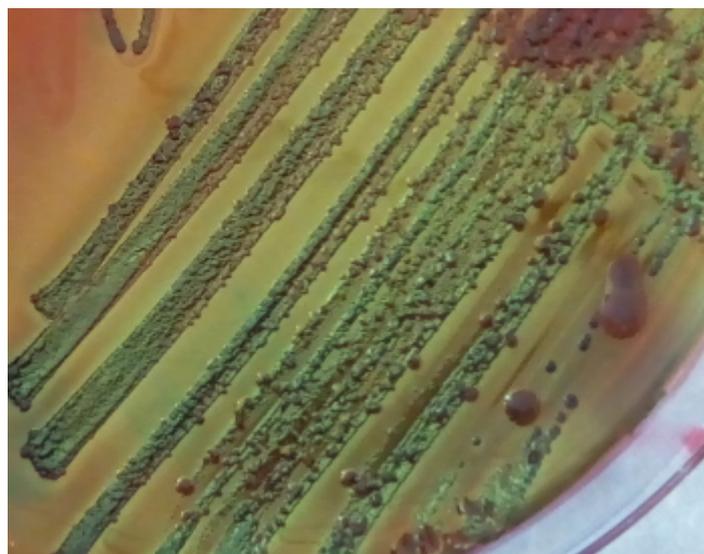


Figure 11 : Aspect macroscopique des souches d'*Escherichia coli* sur milieu EMB.

3. Les tests biochimiques

✚ Coloration de Gram

Après la réalisation de la coloration de Gram, on observe sous microscope optique des bacilles colorés en rose regroupé en amas ou isolé ou bien en petite chênettes. Donc nos souches d'*Escherichia coli* sont à coloration Gram négative.

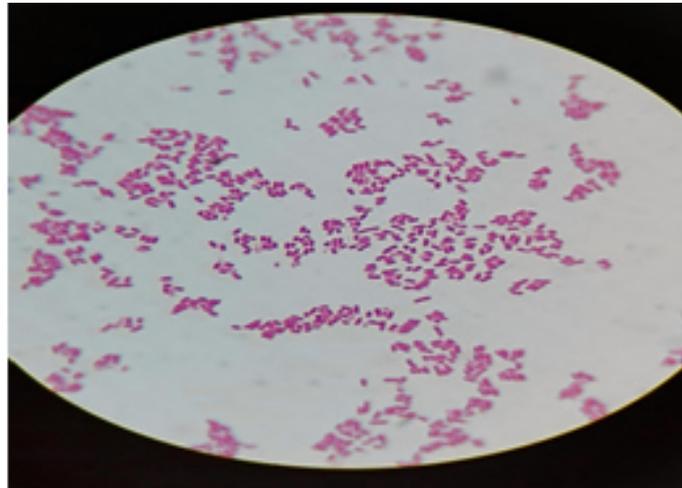


Figure 12 : Observation de souche d'*Escherichia coli* après coloration de Gram sous microscope optique G x 100.

✚ La galerie biochimique classique

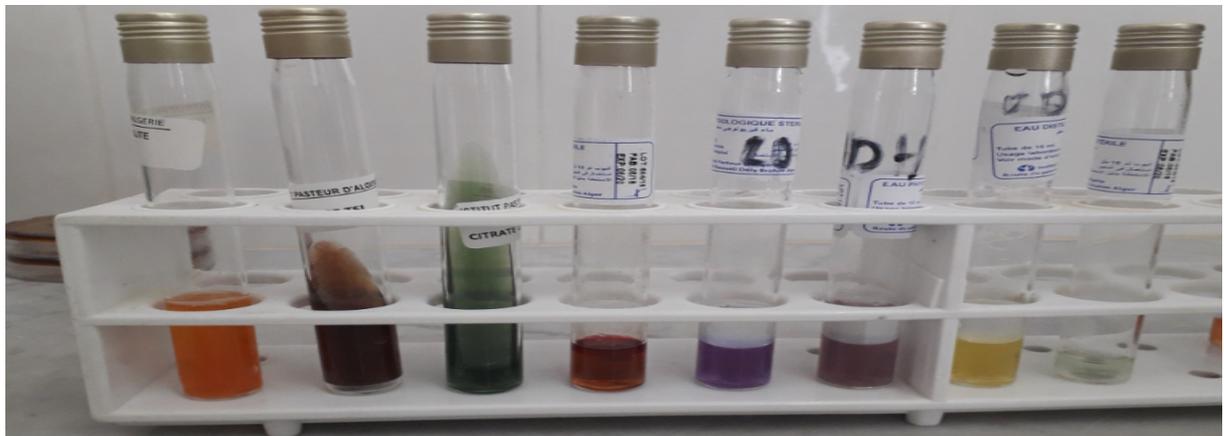


Figure 13 : La Galerie biochimique classique après l'incubation à 37 C₀ pendant 24h.

Tableau VI : Résultats du profil biochimique d'*E. Coli* en galerie classique.

Tests	Man	GIu	Lac	Gaz	H2S	Urée	IND	Citr	ONPG	LDC	ODC	ADH
Résultats	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-

4. Caractéristiques de la population étudiée

A partir de 145 prélèvements urinaires et de pus, 47 souches d'*Escherichia coli* ont été isolées durant une période de deux mois allant de février à avril 2019 au niveau de différents services de l'hôpital de Lakhdria wilaya de Bouira. 47 cas se sont révélés positifs, soit 33%, 50 cas se sont montrés négatifs, soit 35% et 35 cas se sont montrés autre espèce, soit 23% et 9% des cas sont jugés contaminés suite à un mauvais prélèvement ou ensemencement.

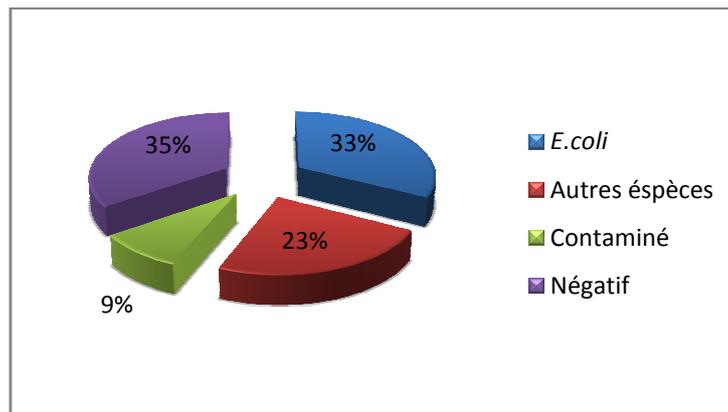


Figure 14 : Répartition des résultats des prélèvements.

4.1. Infections urinaires et de pus à *Escherichia coli*

a. Répartition par origine de prélèvement

Quarante quatre souches (94%) sont isolées des prélèvements urinaires, et 3 souches (6%) sont isolées des prélèvements de pus. Le taux d'infection urinaire est de (94%) et l'espèce la plus impliquée est *E. coli* avec un taux d'isolement de 33%.

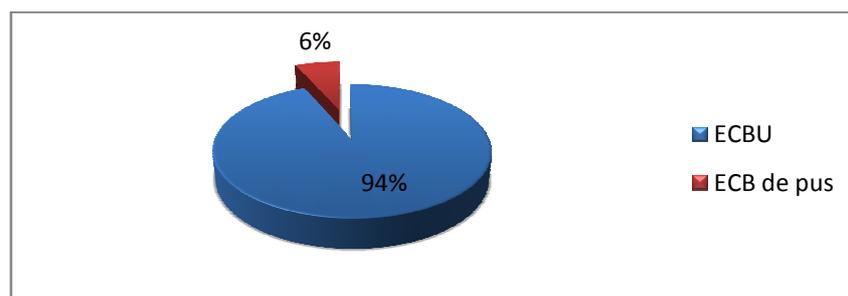


Figure 15 : Répartition d'*Escherichia coli* selon la nature de prélèvement.

b. Répartition selon le sexe**➤ Infections urinaires à *Escherichia coli***

Les malades qui ont eu un ECBU positif se répartissent en 32 femmes (73%) et 12 hommes (27%).

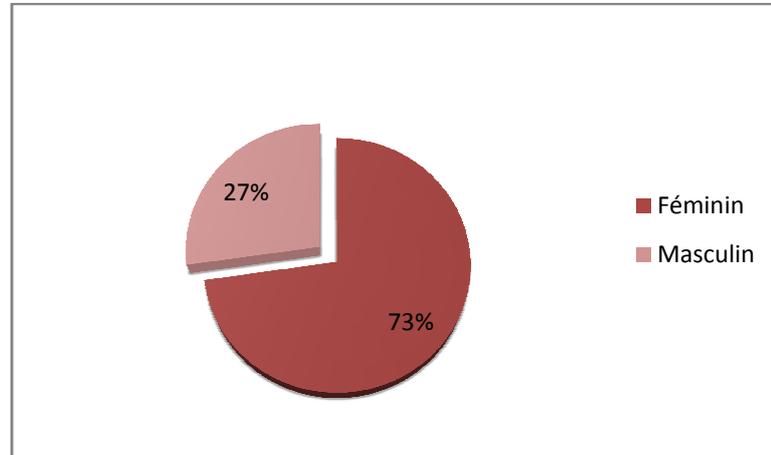


Figure 16 : Répartition des infections urinaires à *Escherichia coli* selon Le sexe.

D'après la répartition des infections urinaires à *Escherichia coli* selon le sexe. Nous avons constaté que les femmes sont plus touchées par infections urinaires que les hommes (73% féminin pour 27% masculin). Nos résultats sont en concordance avec d'autres travaux où des taux de 75% et 25% ont été retrouvés chez la gent féminine et masculine respectivement (Mouy *et al.*, 2007 ; Ben abdalah *et al.*, 2008 ; Bourjilat *et al.*, 2009). Donc ceci est lié aux raisons qui viennent : L'anatomie de l'appareil génital chez la femme favorise l'infection urinaire, elle a un urètre très court, facilite à être accéder par de bactéries ; la proximité entre l'anus et le méat urinaire facilite grandement l'accès de l'urètre aux bactéries intestinales provenant de rectum, en outre l'homme a un appareil génital bien protégé ; l'urètre est plus long. Chez certaines femmes, l'augmentation de l'activité sexuellement peut provoquer les symptômes d'une infection urinaire (Lemaitre *et al.*., 2015). Les femmes enceintes sont particulièrement à risque en raison de la pression exercée par le fœtus sur le système urinaire, les changements hormonaux, aussi la grossesse dilate les voies excrétrices (Pecher et Jacobs, 1994)

➤ Infections de pus à *Escherichia coli*

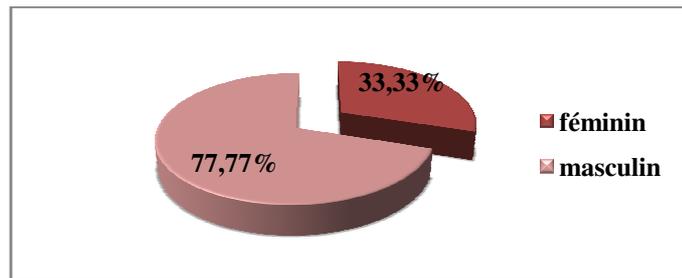


Figure 17 : Répartition de l'infection de pus à *Escherichia coli* selon le sexe.

Nos résultats montrent une prédominance d'*Escherichia coli* chez le sexe masculin avec un taux de 77,77% contre 33,33% chez le sexe féminin.

c. Répartition selon l'âge

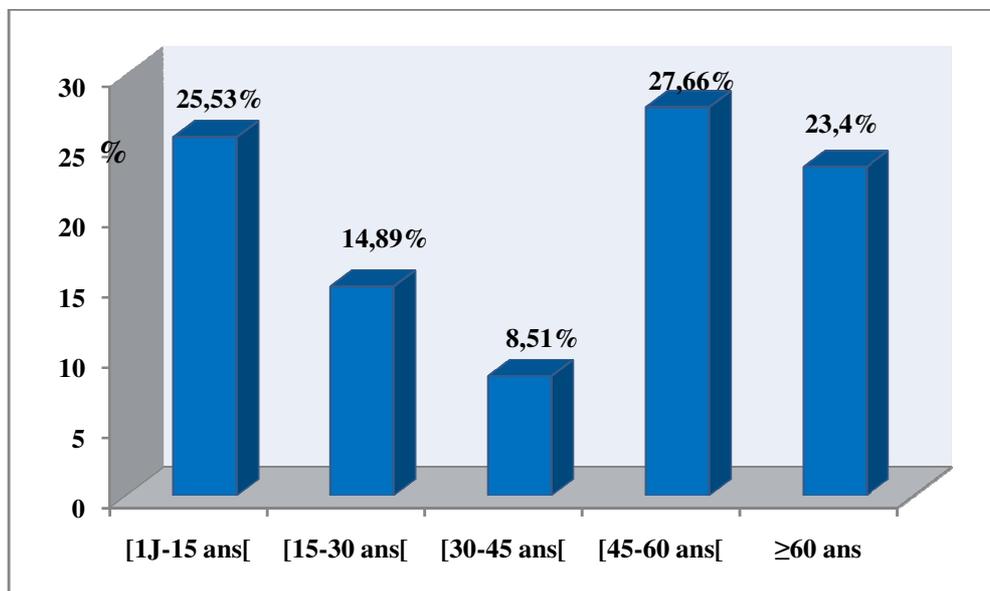


Figure 18 : Répartition des souches d'*Escherichia coli* isolés selon la tranche d'âge

D'après les résultats représentés dans la figure 18, les tranches d'âge retrouvées dans cette étude, vont du nouveau-né jusqu'aux 81 ans. Les résultats ont montré que le nombre des cas d'ECBU positifs à *E. coli* est plus important chez les tranches d'âge avancées: ceux de [45-60 ans [avec 27,66% et la catégorie d'âge allant plus de ≥ 60 ans avec 23,4%. Ceci rejoint les résultats de l'étude faite à Meknès (**Moukrad, Filali et Makoudi, 2012**). Il ya donc un rapport entre le risque infectieux et l'âge. L'infection urinaire à *E. coli* est fréquente chez les patients âgés. Ceux-ci peuvent être expliqués chez la femme avec deux pics, l'un au début de l'activité sexuelle et l'autre en période post ménopausique. Chez l'homme, ces infections sont moins fréquentes mais peuvent être augmenté après 50 ans, en relation avec la pathologie prostatique (**Ben abdalah et al., 2008**).

Chez l'enfant cette situation peut être s'expliquer par l'immaturation de système immunitaire, en particulier chez le nouveau-né (Valérie et al., 2012).

d. Répartition selon les services

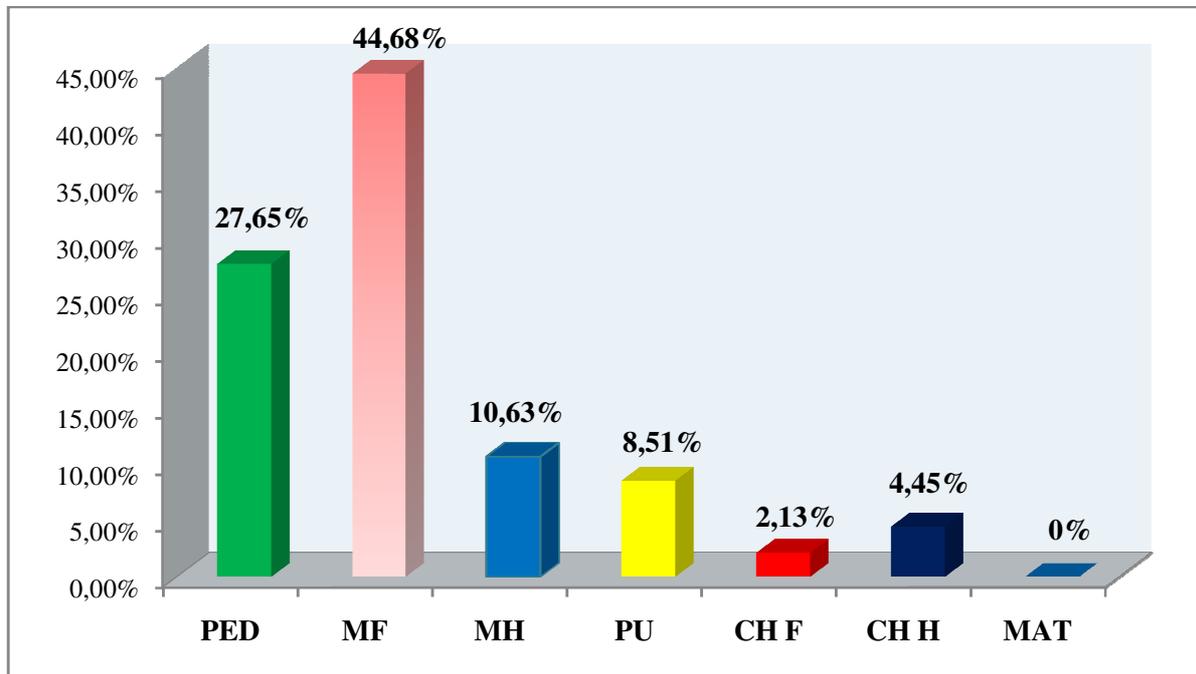


Figure 19 : Répartition d'*Escherichia coli* isolées selon les services

Selon les services de l'hôpital, les souches d'*E. coli* se répartissent différemment. Parmi les résultats positifs obtenus, le service de médecine femme occupe la première place avec 44,68%, suivi par le service de pédiatrie avec 27,65%, le service de maternité n'a enregistré aucune infection urinaire due à *E. coli*. Ce résultat est compatible avec les résultats précédant la répartition d'*Escherichia coli* isolées selon le sexe et l'âge.

5. Sensibilité d'*Escherichia coli* aux antibiotiques

Après incubation, il a été réalisé, pour chaque antibiotique, la mesure de diamètre de la zone d'inhibition de croissance bactérienne autour des disques à l'aide d'une règle appliquée le plus près possible de la surface de gélose. Le diamètre mesuré est comparé à des diamètres critiques de référence (Annexe IV/Tableau V). Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible « S », intermédiaire « I » ou résistante « R ».

5.1. Antibiogramme

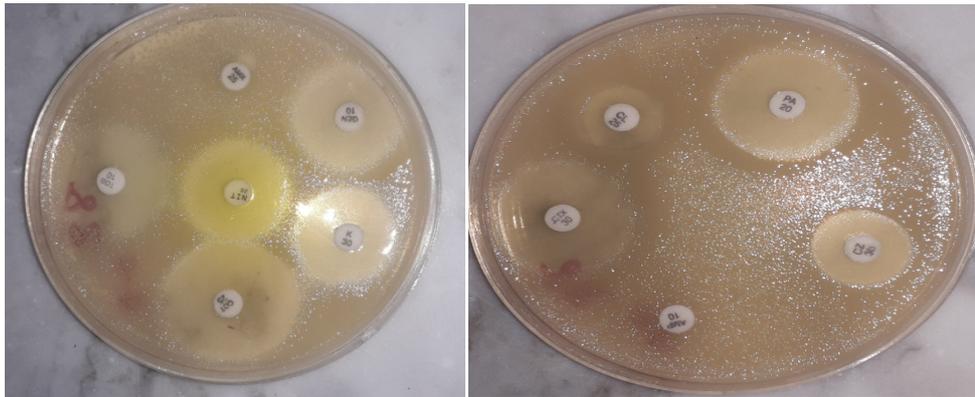


Figure 20 : Résultat d'Antibiogramme d'*Escherichia coli*.

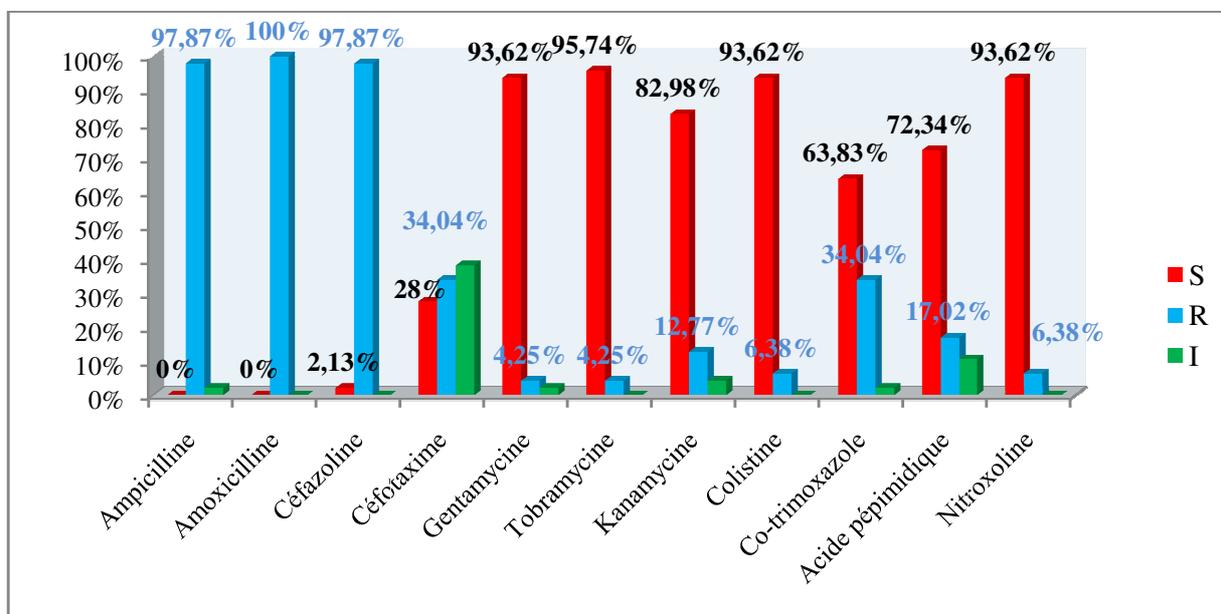


Figure 21 : Sensibilité d'*Escherichia coli* aux antibiotiques

Nous avons testé la sensibilité des 47 souches *Escherichia coli* identifiées vis-à-vis de 11 antibiotiques de différentes familles. Les résultats présentés dans la figure 21 montrent que *Escherichia coli* résistante à tous les antibiotiques de la famille des β -lactamines (Amoxicilline (EML), Amoxicilline (AMX), Céfazoline (CZ)), et moins résistante au céfotaxime. Ces résultats sont similaires à celui retrouvé par Achi et Lalouatni (Achi et Lalouatni, 2018).

On explique la résistance aux bêta-lactamines par la production de bêta-lactamases qui inactive les bêta-lactamines par hydrolyse du noyau bêta-lactame, une diminution de la perméabilité de la membrane externe aux antibiotiques hydrophiles par modification des

porines chez les bacilles à Gram négatif, ainsi que des phénomènes d'efflux (**Djerfi et al., 2013 ; Filali et al.,2000**)

Concernant les aminosides, parmi eux (Gentamycine CN, Tobramycine (TOB) et Kanamycine(K), les souches *Escherichia coli* sont sensibles, dont on trouve les zones d'inhibitions supérieure aux diamètres des normes. La sensibilité aux aminosides dans notre cas rejoint celui de Tassouiket (**Tassouiket ,2014**) mais pas celui de **Achi et Lalouatni (Achi et Lalouatni , 2018)** où ont trouvé des résultats qui vont à l'encontre des nôtres c'est-à-dire des souches d'*E. coli* résistantes aux aminosides. *Escherichia coli* est moins sensible aux quinolones et l'action de cotrimoxazole sur *Escherichia coli* est faible (63 ,83%) alors que celle de la nitroxoline est élevée (93 ,62%). Ce résultat est similaire à celui retrouvé par Tassouiket (**Tassouiket, 2014**).

En ce qui concerne la polymyxine (Colistine), les souches *Escherichia coli* étaient sensibles à cet antibiotique ce qui est en accord avec le résultat de Meskine et Benabdelkader qui ont obtenus un résultat similaire (**Meskine et Benabdelkader, 2016**).

CONCLUSION

Nous sommes intéressés à l'examen cyto bactériologique des urines et de pus. Au total 145 souches ont été isolées et identifiées au niveau de différents services. D'après la Répartition des IU à *Escherichia coli* selon l'âge et le service, Le service de la médecine femme occupe la première place avec 44 ,68% (21 souches) suivi par le service pédiatrie avec 27 ,65(13 souches) ainsi que *E. coli* est plus important chez les tranches d'âge avancées et la catégorie d'âge allant [1j-15ans]. Nous avons également essayé de déterminer le profil de sensibilité des souches *Escherichia coli* isolées aux différentes familles d'antibiotiques. A la lumière des résultats obtenus les bactéries isolées sont résistante à des différentes familles d'antibiotiques de Beta-lactamines, par contre elles sont sensibles aux aminosides, colistine et nitroxoline.

La résistance aux beta-lactamines implique que ces souches sont productrices des bêta-lactamases qui inactivent ces antibiotiques par hydrolyse du noyau beta-lactame.

Ce travail nous a permis d'atteindre les objectifs principaux :

- 1- l'identification des souches d'*Escherichia coli*
- 2- définir et de tester le profil de résistance de cette bactérie étudiée aux différentes familles d'antibiotiques.

C'est ce qui doit être signalé pour permettre aux équipes soignantes de prendre en charge les malades dans les meilleures conditions et d'éviter la transmission de ce germe qui représente une véritable menace pour la santé publique.

Enfin ce travail reste préliminaire et l'étude des mécanismes de résistance nécessite le recours à des techniques avancées de biologie moléculaire ; il est à noter que ces techniques d'isolement, identification et de la détermination des sensibilités aux antibiotiques semblent être nécessaires pour mieux guider l'antibiothérapie et préserver l'efficacité des antibiotiques.

En perspective pour compléter notre étude il faut :

- Prendre en compte un nombre plus élevé de prélèvements afin d'isoler un plus grand nombre de souches.
- Etablir une étude statistique afin de déterminer certains facteurs de risque dans l'acquisition de souches résistantes.
- Elargir la gamme d'antibiotique à tester.
- Compléter l'étude phénotypique pour d'autres familles d'antibiotiques.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Achi et Lalouatni. (2018). Etude phénotypique des souches *Escherichia coli* multi-résistantes. Université des Frères Mentouri Constantine. , Alger.p 51.

Allerberger, F., Wagner, M., Schweiger, P., Rammer, H. P., Resch, A., Dierich, M. P., ... & Karch, H. (2001). *Escherichia coli* O157 infections and unpasteurised milk. Euro surveillance: bulletin Européen sur les maladies transmissibles= European communicable disease bulletin, 6(10), 147-151.

Andrade, J. R. C., DaVeiga, V. F., & Suassuna, I. (1989). An endocytic process in HEP-2 cells induced by enteropathogenic *Escherichia coli*. *Journal of medical microbiology*, 28(1), 49-57.

Andremont A., Tibon-Cornillot M. (2006). Le triomphe de bactéries la fin des antibiotiques .Paris, France : Edition Max Milo.255p.

Avril ,J.L., Dabernat, H., Denis ,F., et Monteil ,H. (2000). La Bactériologie clinique. 2^{ème} Édition, Ellipsis .Paris: 1988 .p149.

Ayad, A. (2017). Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* au niveau des hôpitaux de l'Ouest algérien. [Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de Docteur en microbiologie]. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen.

B

Baranyi, J., & Roberts, T. A. (1995). Mathematics of predictive food microbiology. *International journal of food microbiology*, 26(2), 199-218.

Ben Abdallah ,H., Sahnoun, O., Beb Romdhane, F., Loussaief ,C., Noomen ,S., Bouzouaia ,N.,Bougoussa ,R N., Ibadene, H., Messai ,Y., Ammari ,H., Lounes ,S., Bakour ,R . ; &Guillaume,A. (2006). Dissemination of ESBL, and Qnr determinations in *Enterobacter Cloacae* in Algeria. Algiers; **44** (12): 4584-4586.

Benjamin. (2008). Théodore Escherich et *Escherichia coli*. Microbiologie.

Bielaszewska, M., Janda, J., Blahova, K., Minaříková, H., Jikova, E., Karmali, M. A., ... & KLAZAROVÁ, H. (1997). Human *Escherichia coli* O157 [ratio] H7 infection associated with the consumption of unpasteurized goat's milk. *Epidemiology & Infection*, 119(3), 299-305.

Boulhbal ,F. (2006).Microbiologie S₁ clinique. Office de publication universitaires. Ben-Aknoun(Alger) : 5^{ème} Edition .173p.

Boulhbal ,F. (2009). Manuel de microbiologie. Office des publications universitaires. Ben-Aknoun (Alger) : Edition 2.277p.

Bourjilat, F., Dersi, N., Bouchrif, B., Amarouch, H., & Timinouni, M. (2009). Profil de résistance aux antibiotiques des *Escherichia coli* uropathogènes communautaires au

Maroc. *Eur J Sci Res*,38(1), 57-62.

Bourjilat, F. (2009). Etude prospective de la résistance chez *E. coli* dans l'hôpital de Meknès. Maroc. *Eline. Microbial. Rev.* 22, p 120-123.

Ƨ

Chalmers, R. M., Aird, H., & Bolton, F. J. (2000). Waterborne *Escherichia coli* O157. *Journal of Applied Microbiology*, 88(S1), 124S-132S.

Ƨ

De Mouy, D., Fabre, R., & Cavallo, J. D. (2007). Infections urinaires communautaires de la femme de 15 à 65 ans: sensibilité aux antibiotiques de *E. coli* en fonction des antécédents: étude AFORCOPI-BIO 2003. *Médecine et maladies infectieuses*, 37(9), 594-598.

Delarras ,C. (2010). Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux. Lavoisier :2^{ème} Edition.p331.

Delarras ,C. (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire. Recherche de bactéries et de levures-moisissures. Céline poiteaux : 2^{ème} Edition. p207.

Dembel ,M. (2006). Fréquence d'isolement des souches d'*Escherichia coli* au laboratoire de L'HGT de février 2002 à décembre 2004. Thèse de doctorat. Faculté de médecine de pharmacie et d'Odontostomatologie. p76.

Djerfi. (2013). Isolement et identification d'*Escherichia coli* au niveau des eaux usées d'Oued Boumerzoug Chaabat Erssas, étude de la résistance aux antibiotiques ».

Dziuban ,E.J., Liang ,J.L., Craun ,G.F., Hill ,V., YU ,P.A., ... & Painter ,J. (2006). Surveillance for waterborne disease and outbreaks associated with recreational water--United States, 2003-2004. [Centers for Disease Control and Prevention \(CDC\)](#). 12:1-30.

Ƨ

Escobar-Páramo, P., Le Menac'H, A., Le Gall, T., Amorin, C., Gouriou, S., Picard, B., ... & Denamur, E. (2006). Identification of forces shaping the commensal *Escherichia coli* genetic structure by comparing animal and human isolates. *Environmental microbiology*, 8(11), 1975-1984.

European Commite on Antimicrobial Susceptibility Testing .(EUCAST).(2016).

Evans, J., Chalmers, R. M., Chart, H., Salmon, R. L., Kench, S. M., Coleman, T. J., ... & Thomas, D. R. (2000). Evidence of persisting serum antibodies to *Escherichia coli* O157 lipopolysaccharide and Verocytotoxin in members of rural communities in England. *European journal of epidemiology*,16(10), 885-889.

F

Filali, B. K., Taoufik, J., Zeroual, Y. F. A. Z., Dzairi, F. Z., Talbi, M., & Blaghen, M. (2000). Waste water bacterial isolates resistant to heavy metals and antibiotics. *Current microbiology*, 41(3), 151-156.

G

Gavini, F., Izard, D., Trinel, P. A., Lefebvre, B., & Leclerc, H. (1981). Etude taxonomique d'entérobactéries appartenant ou apparentées à l'espèce *Escherichia coli*. *Canadian Journal of Microbiology*, 27(1), 98-106.

Griffiths .A, J. F., Susan, R., Wessler, Sean ,B., Doebley.J,C. (2013). Introduction à l'analyse génétique. Bruxelles: 6^{ème} Edition.

Griffiths .A,J.F ., Miller.J, H., Suzuki .D,T ., Lewontin.R,C., Gelbart.W,M . (2000). Bacterial conjugation. New York: 7^{ème} Edition.Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21942/>.

I

Jawetz ,J., Joseph, L., Melnick., Adelberg ,E .A. (1973). Microbiologie médicale. Presses Université Laval :Paris.p250.

Johnson, J. R., & Russo, T. A. (2002). Extra intestinal pathogenic *Escherichia coli*: “the other bad E coli”. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 139(3), 155-162.

K

Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 123.

Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., & Collins, J. J. (2010). How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*, 8(6), 423.

L

Lavigne, J. P. (2004). *Escherichia coli* – DFGMS2 ‘Infectieux.p7.

Lemaite,L.,Puech ,P., Fauque, L., Delomez J.,Leroy C., Fantoni J-C et Biserte ,J. (2005). Apport de l'imagerie dans la prise en charge des infections de l'appareil urinaire. *Ann Urol* ;39 :170-196.

Levine, M. M. (1987). *Escherichia coli* that Cause Diarrhea: *Enterotoxigenic, Enteropathogenic, Enteroinvasive, Enterohemorrhagic, and Enteroadherent*. *Journal of Infectious Diseases*, 155(3), 377–389.

Lobel, B. (2007). Prise en charge des cystites chez la femme. *Les infections urinaires*, 73-87.

Lozniewski A, Rabaud C et Nancy. (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques.

Infections associées aux soins .CCLIN Sud-Est.

M

Meskine, A et Benabdkader ,L. (2016). Etude de la résistance et la multirésistance aux antibiotiques des souches isolées du milieu hospitalier. Mémoire. Université Mentouri Constantine. p53.

Michel-Briand ,Y. (2009). Une histoire de la résistance aux antibiotiques : A propos de six bactéries. L'Harmattan. Paris. 360 p.

Moellering, R. C., & Weinberg, A. N. (1971). Studies on antibiotic synergism against enterococci: II. Effect of various antibiotics on the uptake of 14 C-labeled streptomycin by enterococci. *The Journal of clinical investigation*, 50(12), 2580-2584.

Moukrad, N., Filali, F. R., & Makoudi, Y. (2012). Prévalence de la multi-résistance bactérienne aux antibiotiques des infections urinaires dans la ville de Meknès (Maroc) et son évolution dans le temps. *Sciences Lib ED. Mercenne, V. 4 N° 121105 (2012), ISSN 2111-4706.*

Munjal ,Y.P et Surendra, K. S.(2012).API Textbook of medicine.JP Medical:9^{ème} Edition. p1090.

N

Nauciel ,C., Vildé, J.L. (2007). Bactériologie médicale. Elsevier Masson SAS .p 122-123.

Neu ,H.C., Gootz ,T.D. Antimicrobial Chemotherapy. In: Baron S, editor.Medical Microbiology [Internet]. 4th ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996 [cited 2016 Nov 9]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7986/> (consulté le 15/04/2019).

O

O'Brien, A. D., LaVeck, G. D., Thompson, M. R., & Formal, S. B. (1982). Production of Shigella dysenteriae type 1-like cytotoxin by *Escherichia coli*. *The Journal of infectious diseases*, 146(6), 763-769.

P

Paton, A. W., Srimanote, P., Woodrow, M. C., & Paton, J. C. (2001). Characterization of Saa, a Novel Autoagglutinating Adhesin Produced by Locus of Enterocyte Effacement-Negative Shiga-Toxigenic *Escherichia coli* Strains That Are Virulent for Humans. *Infection and immunity*, 69(11), 6999-7009.

Paul Battraud ,M. La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ?. [En ligne]. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en Pharmacie. Lille : Université Lille 2 – Droit et Santé, 2017,174p. Format PDF .Disponible sur : <http://pharmacie.univ-lille2.fr> (consulté le 03/04/2019).

Pebret, F. (2003). Maladies infectieuses : toutes les pathologies des programmes officiellesdes études médicales paramédicales. Heurs de France. France. 592p.

Pecher ,J.C., Jacobs. (1994). Le diabète sucré. 2^{ème} édition, Maloine, Canada.

Pellegrims, E. (1994). Reperes en bactériologie clinique extra-hospitaliere. Maklu : France.p33.

Pfeifer, Y., Cullik, A., & Witte, W. (2010). Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. *International journal of medical microbiology*, 300(6), 371-379.

Prescott ,L. M ., Willey ,J .M ., Sherwood ,L. M ., Woolverton,C.J . (2018). Microbiologie de Prescott. De Boeck Supérieur : 5^{ème} Edition .p 385.

Prescott, L. M., Klein ,D. A., Harley J. P. (2010). Microbiologie .De Boeck Université, Bruxelles : 3^{ème} Editions .1088 p.



Riley, L. W., Remis, R. S., Helgerson, S. D., McGee, H. B., Wells, J. G., Davis, B. R., ... & Blake, P. A. (1983). Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New England Journal of Medicine*, 308(12), 681-685.



Saga ,T., Yamaguchi, K.(Avril 2009). History of Antimicrobial Agents and Resistant *Bacteria*. *Japon Medical Association Journal*. 52(2).103-108.

Ségolène ,M. (2016). Caractérisation de souches d'*Escherichia coli* pathogènes urinaires provenant de guadeloupe : portrait de la diversité des facteurs de virulence présents. Mémoire présentée pour l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.) en Microbiologie Appliquée. Université du Québec.

Shulman, S. T., Friedmann, H. C., & Sims, R. H. (2007). Theodor Escherich: the first pediatric infectious diseases physician?. *Clinical infectious diseases*, 45(8), 1025-1029.

Söderström, A., Österberg, P., Lindqvist, A., Jönsson, B., Lindberg, A., Blide Ulander, S., ... & Kühlmann-Berenzon, S. (2008). A large *Escherichia coli* O157 outbreak in Sweden associated with locally produced lettuce. *Food borne pathogens and disease*, 5(3), 339-349.

Sugiyama, A., Iwade, Y., Akachi, S., Nakano, Y., Matsuno, Y., Yano, T., ... & Nagasaka, Y. (2005). An outbreak of Shigatoxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 in a nursery school in Mie Prefecture. *Japanese journal of infectious diseases*, 58(6), 398.



Tassouiket S. (2014).Sensibilité aux antibiotiques d'*Escherichia coli* isolés d'infections urinaires communautaires à l'institut Pasteur de Casablanca. Université Mohammed V – Rabat,Maroc.p 88.

V^o

Valérie, B., Sophie, S., et Yannick, A. (2012). Particularité des infections nosocomiales chez l'enfant fragile. Spécificités en néonatalogie. Université Paris 7. Diderot, Sorbonne Paris Cité, France. p :41-50.

Vial, P. A., Robins-Browne, R., Lior, H., Prado, V., Kaper, J. B., Nataro, J. P., ... & Levine, M. M. (1988). Characterization of enteroadherent-aggregative *Escherichia coli*, a putative agent of diarrheal disease. *Journal of Infectious Diseases*, 158(1), 70-79.

W^o

Wilson, M., McNab, R., & Henderson, B. (2002). Bacterial disease mechanisms: an introduction to cellular microbiology. Cambridge University Press.

LES ANNEXES

ANNEXE I

Tableau I : Les prélèvements effectués durant notre stage.

Echantillon	Type	Date de prélèvement	Age	Sexe	service	Résultat
1	ECBU	05.03.2019	24 ans	Féminin	MIF	+(<i>E.coli</i>)
2	ECBU	09.03.2019	58 ans	Féminin	MIF	-(contamination)
3	ECBU	/	83 ans	Féminin	MIF	-
4	ECBU	/	89 ans	Féminin	MIF	-
5	ECBU	10.03.2019	62 ans	Féminin	MIF	-
6	ECBU	11.03.2019	8 J	Féminin	PED	-(<i>S. blanc</i>)
7	ECBU	/	12 J	Masculin	PED	-
8	ECBU	/	11 ans	Féminin	PED	-
9	ECBU	/	3 ans	Féminin	PED	-
10	ECB de pus	/	53 ans	Féminin	Ch F	-
11	ECBU	12.03.2019	24 ans	Masculin	MIH	-
12	ECBU	/	82 ans	Masculin	MIH	-
13	ECBU	/	53 ans	Masculin	MIH	-
14	ECBU	13.03.2019	25 ans	Féminin	MIF	-(<i>S. aureus</i>)
15	ECBU	14.03.2019	7mois	Masculin	PED	-
16	ECBU	/	1mois	Masculin	PED	-
17	ECBU	/	16mois	Masculin	PED	-
18	ECBU	/	3 mois	Masculin	PED	-
19	ECBU	17.03.2019	59 ans	Féminin	MIF	-(<i>Trichomonas</i>)
20	ECBU	/	42 ans	Féminin	MIF	-
21	ECBU	/	64 ans	Féminin	MIF	-
22	ECBU	18.03.2019	5 mois	Masculin	PED	-
23	ECBU	/	4 mois	Masculin	PED	-(Contamination)
24	ECBU	/	46 ans	Masculin	MIH	-
25	ECB de pus	20.03.2019	60 ans	Masculin	Ch H	+(<i>E.coli</i> – <i>Entérobacter</i>)
26	ECB de pus	/	30 ans	Féminin	Ch F	-
27	ECBU	/	50 ans	Masculin	MIH	-
28	ECBU	25.03.2019	51 ans	Féminin	MIF	-(<i>Enterobacter</i>)

LES ANNEXES

29	ECBU	/	47 ans	Féminin	MIF	-(+ Des cristaux)
30	ECBU	/	50 ans	Masculin	Urg	+(<i>E.coli</i>)
31	ECBU	/	35 ans	Féminin	MIF	+(<i>E.coli</i>)
32	ECBU	26.03.2019	2 mois	Masculin	PED	-(Pseudomonas sp)
33	ECBU	/	1 mois	Féminin	PED	-
34	ECBU	/	70 ans	Féminin	MIF	-
35	ECBU		2 ans	Masculin	PED	-
36	ECBU	27.03.2019	3 ans	Masculin	PED	-
37	ECBU	/	18 ans	Féminin	MIF	+ (<i>E.coli</i>)
38	ECB de pus	/	81 ans	Masculin	Ch H	+(<i>E.coli</i>)
39	ECBU	/	63 ans	Masculin	MIH	-(<i>Entérocoque</i>)
40	ECBU	31.03.2019	66 ans	Masculin	MIH	-(contamination)
41	ECBU	/	60 ans	Masculin	MIH	-
42	ECBU	/	25 ans	Féminin	MIF	+ (<i>E.coli</i>)
43	ECBU	02.04.2019	34 ans	Féminin	Urg	-(<i>S.aureus</i>)
44	ECB de pus	/	14 ans	Masculin	Ch H	-
45	ECBU	/	16 ans	Féminin	MIF	-
46	ECBU	/	84 ans	Féminin	MIF	-
47	ECBU	02.04.2019	39 ans	Féminin	MIF	-(contamination)
48	ECBU	03.04.2019	40 ans	Masculin	MIH	-
49	ECBU	/	33 ans	Féminin	MIF	-
50	ECB de pus	07.04.2019	40 ans	Féminin	Ch F	-
51	ECBU	/	2 ans	Masculin	PED	-
52	ECB de pus	08.04.2019	25 ans	Féminin	Ch F	+ (<i>E.coli</i>)
53	ECBU	09.04.2019	66 ans	Féminin	MIF	-
54	ECB de pus	/	31 ans	Masculin	Ch H	(<i>S.aureus</i> + <i>Entérocoque</i>)
55	ECBU	10.04.2019	5 mois	Féminin	PED	-
56	ECBU	14.04.2019	26 jour	Masculin	PED	-(Contamination)
57	ECBU	16.04.2019	55 ans	Masculin	Urg	+(<i>E.coli</i>)
58	ECB de pus	/	18 ans	Féminin	Ch F	-(<i>S.aureus</i>)
59	ECBU	16.04.2019	29 ans	Féminin	MIF	-

LES ANNEXES

60	ECBU	18.04.2019	46 ans	Féminin	MIF	<i>+(E.coli)</i>
61	ECBU	/	9 mois	Féminin	PED	<i>+(E.coli)</i>
62	ECBU	/	60 ans	Masculin	MIH	<i>+(E.coli)</i>
63	ECBU	/	52 ans	Féminin	MIF	<i>+(E.coli)</i>
64	ECBU	/	25 ans	Féminin	Urg	<i>+(E.coli)</i>
65	ECBU	/	3 mois	Masculin	PED	-(contamination)
66	ECB de pus	20.04.2019	30 ans	Masculin	Ch H	-
67	ECBU	/	43 ans	Féminin	MIF	<i>+(E.coli)</i>
68	ECBU	/	50 ans	Masculin	MIH	<i>+(E.coli)</i>
69	ECBU	/	71 ans	Féminin	MIF	<i>+(E.coli)</i>
70	ECBU	21.04.2019	7 Jours	Féminin	PED	-(<i>S. aureus</i>)
71	ECB de pus	/	38 ans	Masculin	Ch H	-
72	ECB de pus	/	40 ans	Féminin	Ch H	-(<i>S. aureus</i>)
73	ECBU	/	9 ans	Féminin	PED	<i>+(E.coli)</i>
74	ECBU	/	48 ans	Féminin	MIF	<i>+(E.coli)</i>
75	ECBU	/	60 ans	Masculin	MIH	<i>+(E.coli)</i>
76	ECB de pus	23.04.2019	40 ans	Masculin	Ch H	-(<i>S. aureus</i>)
77	ECB de pus	/	30 ans	Féminin	MAT	-(<i>S. aureus</i>)
78	ECBU	/	27 ans	Féminin	MIF	<i>+(E.coli)</i>
79	ECB de pus	/	29 ans	Féminin	MAT	-(<i>S. aureus</i>)
80	ECB de pus	/	61 ans	Féminin	MAT	-(<i>S. aureus</i>)
81	ECBU	25.04.2019	24 ans	Féminin	MIF	-(Contamination)
82	ECBU	/	7 mois	Féminin	PED	<i>+(E.coli)</i>
83	ECBU	/	52 ans	Féminin	MIF	<i>+(E.coli)</i>
84	ECBU	/	69 ans	Masculin	MIH	<i>+(E.coli)</i>
85	ECBU	27.04.2019	32 ans	Féminin	MIF	-
86	ECBU	/	50 ans	Masculin	MIH	-(<i>S.aureus</i>)
87	ECBU	/	54 ans	Féminin	MIH	-(<i>S.aureus</i>)
88	ECBU	/	49 ans	Féminin	MIF	<i>+(E.coli)</i>
89	ECBU	/	1 ans	Masculin	PED	-
90	ECBU	28.04.2019	7 ans	Féminin	PED	-
91	ECBU	/	71 ans	Féminin	MIF	<i>+(E.coli)</i>
92	ECBU	/	5 mois	Féminin	PED	-(<i>S.aureus</i>)

LES ANNEXES

93	ECBU	/	21 ans	Féminin		-
94	ECBU	/	10 jour	Féminin	PED	+(<i>E.coli</i>)
95	ECBU	/	63 ans	Masculin	MIH	+(<i>E.coli</i>)
96	ECB de pus	/	14 ans	Masculin	Ch H	-(<i>S.aureus</i>)
97	ECBU	30.04.2019	11mois	Féminin	PED	+(<i>E.coli</i>)
98	ECBU	/	44 ans	Féminin	MIF	-(<i>S.aureus</i>)
99	ECBU	/	39 ans	Féminin	MIF	-(<i>S.aureus</i>)
100	ECBU	/	40 ans	Féminin	Ch F	-(<i>Klébsiella sp</i>)
101	ECBU	/	08 ans	Féminin	PED	+(<i>E.coli</i>)
102	ECBU	/	54 ans	Féminin	MIF	+(<i>E.coli</i>)
103	ECBU	04.05.2019	30 ans	Féminin	MIF	-(Contamination)
104	ECBU	/	9 jours	Féminin	PED	-
105	ECBU	/	60 ans	Masculin	Urg	+(<i>E.coli</i>)
106	ECBU	/	12 ans	Masculin	PED	+(<i>E.coli</i>)
107	ECBU	/	06 ans	Masculin	PED	+(<i>E.coli</i>)
108	ECB de pus	06.05.2019	69 ans	Masculin	Ch H	-(<i>S.aureus</i>)
109	ECB de pus	/	08 ans	Masculin	Ch H	-(<i>S.aureus</i>)
110	ECBU	/	12mois	Féminin	PED	+(<i>E.coli</i>)
111	ECBU	/	57 ans	Féminin	MIF	+(<i>E.coli</i>)
112	ECB de pus	/	37 ans	Masculin	Ch H	-(<i>Klébsiella sp</i>)
113	ECBU	/	08 jour	Masculin	PED	-(Contamination)
114	ECBU	08.05.2019	9 ans	Masculin	PED	-(<i>S.aureus</i>)
115	ECB de pus	/	6 ans	Féminin	Ch F	-(<i>S.aureus</i>)
116	ECB de pus	/	40 ans	Féminin	Ch F	-(<i>S.aureus</i>)
117	ECBU	/	45 ans	Masculin	MIH	-
118	ECBU	/	39 ans	Masculin	MIH	-
119	ECBU	/	75 ans	Féminin	MIF	+(<i>E.coli</i>)
120	ECBU	/	63 ans	Féminin	MIF	+(<i>E.coli</i>)
121	ECBU	/	7 mois	Féminin	PED	+(<i>E.coli</i>)
122	ECBU	09.05.2019	12 ans	Féminin	PED	-
123	ECBU	/	50 ans	Féminin	MIF	-(Contamination)
124	ECBU	/	9 mois	Masculin	PED	-(Contamination)
125	ECBU	/	45 ans	Féminin	MIF	+(<i>E.coli</i>)

LES ANNEXES

126	ECBU	/	38 ans	Féminin	MIF	<i>+(E.coli)</i>
127	ECBU	/	69 ans	Masculin	MIH	-
128	ECB de pus	12.05.2019	78 ans	Masculin	Ch H	<i>(Pseudomonas .s)</i>
129	ECBU	/	63 ans	Masculin	MIH	-
130	ECB de pus	/	73 ans	Masculin	Ch H	<i>-(S.aureus)</i>
131	ECBU	/	56 ans	Féminin	MIF	<i>+(E.coli)</i>
132	ECBU	/	3 mois	Féminin	PED	<i>+(E.coli)</i>
133	ECB de pus	13.05.2019	70 ans	Masculin	Ch H	<i>-(S.aureus)</i>
134	ECB de pus	/	33 ans	Masculin	Ch H	<i>-(S.aureus)</i>
135	ECBU	/	49 ans	Masculin	MIH	<i>-(S.aureus)</i>
136	ECBU	/	57 ans	Féminin	MIF	<i>+(E.coli)</i>
137	ECBU	/	15mois	Féminin	PED	<i>+(E.coli)</i>
138	ECBU	15.05.2019	4 mois	féminin	PED	<i>-(contamination)</i>
139	ECBU	/	30 ans	Féminin	MIF	<i>+(E.coli)</i>
140	ECBU	/	32 ans	Masculin	MIF	-
141	ECBU	/	21 J	Féminin	PED	<i>-(contamination)</i>
142	ECBU	20.05.2019	9 ans	Masculin	PED	<i>-(S.aureus)</i>
143	ECB de pus	/	33 ans	Masculin	Ch H	<i>-(S.aureus)</i>
144	ECBU	/	28 ans	Féminin	MIF	-
145	ECBU	/	7 mois	Féminin	PED	<i>+(E.coli)</i>

ANNEXE II

1. Tableau II : Compositions des milieux de cultures (Delarras, 2014 ; Delarras, 2010).**2. Gélose nutritive**

Extrait de viande	1,0g
Extrait de levure	2,0g
Peptone	5,0g
Chlorure de Sodium	5,0g
Agar	15,0g
Ph	7

3. Milieu EMB

Peptone	10g/L
Lactose	10g/L
Phosphate dipotassique	2g/L
Eosine jaunâtre	0,4g/L
Bleu de méthylène	0,065g/L
Agar-agar	13,5g/L
pH	7,0 ± 0,2

4. Milieu TSI

Extrait de viande	3 g/L
Extrait de levure	3 g/L
Peptone	20 g/L
Chlorure de sodium	5 g/L
Lactose	10 g/L
Saccharose	10 g/L
Glucose	1 g/L
Sulfate ferreux ammoniacal	300 mg
Rouge de phénol	24 mg
Thiosulfate de sodium anhydre	300 mg
Agar	11 g/L
pH final	7,4 ± 0,2

5. Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf	300,0 g /l
Hydrolysate de caséine	17,5 g /l
Amidon	1,5 g /l
Agar	17,0 g /l
Eau distillée (qsp)	1L

6. Urée-Indole

Tryptophane	3g/L
Urée	20g/l
KH ₂ PO ₄	1g/l
K ₂ HPO ₄	1g/l
NaCl	5g/l
Alcool à 95°	10 mL
Rouge de phénol 2,5 MI	2,5 mL

7. Citrate de Simmons

Sulfate de Mg	0,2 g/l
Phosphate mono ammoniacal	1g/l
Phosphate bi potassique	1g/l
Citrate de sodium	2g/l
NaCl	5g/l
Bleu de bromothymol	0,08g/l
Agar	15g/l
pH	6,8

8. Mannitol-Mobilité-Nitrate

Peptone	20g/L
Nitrate de K	1g/L
Mannitol	2g/L
Rouge de phénol à 1%	4 mL
Agar	4g/L
pH	8.1

9. Milieu Moëller (LDC, ODC, ADH)

Peptone	5
Extrait de viande	5
BCP	0.1
Rouge de crésol	5mg
Pyridoxal	5mg
Glucose	0.5
pH	6

ANNEXE III

Tableau III : Les réactifs et les colorants utilisés.

1. Réactif de Kovacs	
Para diméthylamino benzaldéhyde	0,5 g
Alcool iso amylique	75 ml
Acide chlorhydrique	25 ml
2. Violet de Gentiane	
Violet de Gentiane	10 g
Phénol	20 g
Éthanol (90 °GL)	100 ml
Eau distillée	1L
3. Logul	
Iodure de potassium	2 g
Iode métalloïde I	21 g
Eau q.s. ad	100 g
q.s. ad 100 g signifie "quantité suffisante pour obtenir 100 g de solution"	
4. Fuchsine	
Fuchsine basique	10 g
Phénol	50 g
Éthanol	100 mL
Eau distillée	1 L
Principe de coloration de Gram	
<p>Il s'agit d'une technique qui permet de distinguer les bactéries en fonction de structure de leur paroi, ces étapes sont les suivantes:</p> <p>Après la réalisation d'un frottis on fait un séchage et fixation par la chaleur et on recouvre par le violet de gentiane. Laissez agir 1 min puis rincez à l'eau. Ensuite recouvrir de lugol, et laissez agir 1 min, puis laver à l'eau physiologique. Et après décoloration par l'utilisation de l'alcool, pendant 30 secondes puis rinçage. Recoloration par la fuchsine. Laissez agir 1 min puis rincez à l'eau. Enfin séchage de la lame, on l'observe avec une goutte d'huile à l'immersion objective x 100</p>	

ANNEXE IV

Tableau IV : Les diamètres de résistance d'Escherichia coli aux antibiotiques.

ATB	AMP	AMX	CZ	CTX	GEN	K	TOB	CL	COT	PA	NIT
Ech											
E 1	R	R	10/R	21/R	22/S	R	21/S	14/S	30/S	24/S	18/S
E25	R	R	R	27/S	24/S	R	R	R	29/S	R	19/S
E30	R	R	R	24/I	27/S	26/S	27/S	13/S	30/S	26/S	25/S
E31	R	R	11/R	22/R	22/S	21/S	23/S	12/S	R	25/S	23/S
E37	R	R	R	25/I	23/S	19/S	20/S	16/S	31/S	27/S	26/S
E38	R	R	R	26/S	23/S	26/S	28/S	14/S	31/S	25/S	24/S
E42	R	R	17/R	23/I	22/S	19/S	20/S	13/S	31/S	19/I	17/R
E52	R	R	16/R	24/I	23/S	20/S	24/S	13/S	32/S	20/I	23/S
E57	R	R	17/R	24/I	24/S	21/S	24/S	15/S	29/S	25/S	17/R
E60	R	R	15/R	22/R	20 /S	22/S	19/S	18/S	30/S	19/I	18/S
E61	R	12/R	18/R	20/R	22/S	20/S	24/S	13/S	28/S	26/S	20/S
E62	R	R	R	24/I	23/S	21/S	23/S	17/S	R	24/S	27/S
E63	R	R	28/S	21/R	24/S	20/S	29/S	15/S	35/S	24/S	25/S
E64	15 /I	R	17/R	19/R	24/S	23/S	28/S	14/S	32/S	25/S	22/S
E67	R	12/R	10/R	25/I	27/S	8/R	26/S	R	33/S	R	29/S
E68	9/R	R	R	R	14/R	15/I	14/R	15/S	R	21/S	25/S
E69	R	R	10/R	24/I	23/S	22/S	24/S	25/S	R	29/S	24/S
E73	R	R	14/R	30/S	22/S	21/S	25/S	15/S	33/S	31/S	25/S
E74	R	R	10/R	20/R	20/S	18/S	23/S	14/S	R	13/R	23/S
E75	R	R	R	20/R	15/I	12/R	17/S	15/S	R	23/S	25/S
E78	R	R	14/R	24/I	24/S	23/S	25/S	15/S	35/S	27/S	28/S
E82	R	R	10/R	26/S	26/S	24/S	26/S	15/S	R	30/S	25/S
E83	R	R	15/R	28/S	24/S	24/S	26/S	15/S	37/S	20/I	23/S
E84	R	R	16/R	28/S	28/S	25/S	30/S	17/S	37/S	30/S	23/S
E88	R	R	17/R	22/R	21/S	24/S	24/S	16/S	32/S	28/S	22/S
E91	R	R	R	R	27/S	26/S	30/S	15/S	R	15/R	10/R
E94	R	R	17/R	25/I	25/S	22/S	30/S	14/S	35/S	18/I	28/S
E95	R	R	15/R	27/S	27/S	22/S	28/S	14/S	23/S	28/S	23/S
E97	R	R	10/R	22/R	25/S	22/S	25/S	14/S	30/S	30/S	25/S

E101	R	R	19/R	30/S	27/S	24/S	28/S	17/S	35/S	30/S	25/S
E102	R	R	14/R	25/I	23/S	R	23/S	13/S	29/S	22/S	21/S
E105	R	R	17/R	24/I	25/S	22/S	25/S	18/S	30/S	27/S	26/S
E106	R	R	18/R	28/S	25/S	22/S	24/S	17/S	35/S	30/S	28/S
E107	R	R	17/R	27/S	21/S	21/S	25/S	14/S	30/S	25/S	23/S
E110	R	R	10/R	24/I	24/S	24/S	25/S	15/S	R	25/S	20/S
E111	R	R	15/R	23/I	24/S	24/S	26/S	14/S	R	R	25/S
E119	R	R	15/R	23/I	21/S	20/S	22/S	15/S	31/S	28/S	25/S
E120	R	R	15/R	26/S	25/S	23/S	24/S	16/S	32/S	25/S	23/S
E121	R	R	15/R	24/I	22/S	17/I	21/S	14/S	30/S	26/S	23/S
E125	R	R	11/R	25/I	22/S	21/S	25/S	14/S	R	23/S	26/S
E126	R	R	10/R	22/R	23/S	22/S	23/S	13/S	R	24/S	25/S
E131	R	R	16/R	23/I	29/S	22/S	25/S	14/S	9/R	27/S	25/S
E132	R	R	12/R	6/R	21/S	20/S	22/S	11/S	20/I	R	22/S
E136	R	R	15/R	10/R	24/S	23/S	22/S	12/S	26/S	R	23/S
E137	R	R	12/R	20/R	22/S	21/S	23/S	15/S	R	26/S	25/S
E139	R	R	R	30/S	R	11/R	29/S	R	R	29/S	22/S
E145	R	R	11/R	27/S	24/S	22/S	24/S	15/S	R	R	22/S

Tableau V : Sensibilité d'*Escherichia coli* aux antibiotiques.

ATB	AMP	AMX	CZ	CTX	GEN	K	TOB	CL	COT	PA	NIT
Ech											
E 1	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S
E25	R	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S
E30	R	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S
E31	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S
E37	R	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S
E38	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
E42	R	R	R	I	S	S	S	S	S	I	R
E52	R	R	R	I	S	S	S	S	S	I	S
E57	R	R	R	I	S	S	S	S	S	S	R
E60	R	R	R	R	S	S	S	S	S	I	S
E61	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S

E62	R	R	R	I	S	S	S	S	R	S	S
E63	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S
E64	I	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
E67	R	R	R	I	S	R	S	R	S	R	S
E68	R	R	R	R	R	I	R	S	R	S	S
E69	R	R	R	I	S	S	S	S	R	S	S
E73	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
E74	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S
E75	R	R	R	R	I	R	S	S	R	S	S
E78	R	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S
E82	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S
E83	R	R	R	S	S	S	S	S	S	I	S
E84	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
E88	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
E91	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R
E94	R	R	R	I	S	S	S	S	S	I	S
E95	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
E97	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
E101	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
E102	R	R	R	I	S	R	S	S	S	S	S
E105	R	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S
E106	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
E107	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
E110	R	R	R	I	S	S	S	S	R	S	S
E111	R	R	R	I	S	S	S	S	R	R	S
E119	R	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S
E120	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
E121	R	R	R	I	S	I	S	S	S	S	S
E125	R	R	R	I	S	S	S	S	R	S	S
E126	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S
E131	R	R	R	I	S	S	S	S	R	S	S
E132	R	R	R	R	S	S	S	S	I	R	S
E136	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S

E137	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S
E139	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S
E145	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S

Tableau VI : Valeurs critiques des diamètres (mm) des zones d'inhibitions pour *Escherichia coli* (EUCAST, 2016)

Antibiotiques	Charge (ug)	Résistance	Intermédiaire	Sensible
AMP	10	< 14	[14-16]	≥ 17
AMX	25	< 14	[14-17]	≥ 18
CZ	30	< 19	[20-22]	≥ 23
CTX	30	< 22	[23-25]	≥ 26
GEN	10	< 14	[14-16]	≥ 17
K	30	< 13	[14-17]	≥ 18
TOB	10	< 14	[14-16]	≥ 17
CL	25	< 11	/	≥ 11
COT	25	< 17	[17-22]	≥ 23
PA	20	< 18	[18-20]	≥ 21
NIT	20	< 14	[14-17]	≥ 18

ANNEXE V

Les tableaux des diagrammes de partie résultat

Tableau VII : Répartition des résultats des prélèvements.

Espèce	<i>E. coli</i>	Négative	Contaminée	Autre espèce	Total
Résultat	47	50	13	35	145
Pourcentage (%)	33%	35%	9%	23%	100%

Tableau VIII : Répartition d'*Escherichia coli* isolés selon la nature de prélèvement.

Type de prélèvement	ECBU	ECB de pus	Total
Nombre	44	3	47
Pourcentage (%)	93,62	6,38	100

Tableau IX : Répartition d'*Escherichia coli* isolées selon les services.

Les services	PED	MF	MH	PU	CH F	CH H	MAT	Total
Nombre	13	23	5	4	1	2	0	47
Pourcentage (%)	27,65	44,48	10,63	8,51	2,13	4,45	0	100

Tableau X : Répartition des IU à *Escherichia coli* selon Le sexe.

sexe	Féminin	Masculin	Total
Nombre	32	12	44
Pourcentage (%)	72,73	27,27	100

Tableau XI : Répartition de l'infection de pus à *Escherichia coli* selon Le sexe.

sexe	Féminin	Masculin	Total
Nombre	1	2	3
Pourcentage (%)	33,33	77,77	100

Tableau XII : Répartition des souches d'*Escherichia coli* isolés selon la tranche l'âge.

Age	[1J-15 ans [[15-30 ans[[30-45 ans[[45-60 ans[≥60 ans	total
Nombre	12	7	4	13	11	47
P (%)	25,53	14,89	8,51	27,66	23,4	100

Tableau XIII : Sensibilité d'*Escherichia coli* aux antibiotiques.

Antibiotiques	Souche résistance		Souche sensible		Souche intermédiaire	
	nombre	P (%)	nombre	P (%)	nombre	P (%)
Ampicilline	46	97,87	0	0	1	2,13
Amoxicilline	47	100	0	0	0	0
Céfazoline	46	97,87	1	2,13	0	0
Céfotaxime	16	34,04	13	27,66	18	38,30
Gentamycine	2	4,25	44	93,62	1	2,13
Kanamycine	6	12,77	39	82,98	2	4,25
Tobramycine	2	4,25	45	95,74	0	0
Colistine	3	6,38	44	93,62	0	0
Co-trimoxazole	16	34,04	30	63,83	1	2,13
Nitroxoline	3	6,38	44	93,62	0	0
Acide Pipémédique	8	17,02	34	72,34	5	10,64

Résumé

Nous avons réalisé une étude qui porte sur les patients de différents services de l'hôpital de Lakhria durant la période de stage qui est de 5 Mars au 5 Mai 2019. Cette étude a porté sur des souches d'*Escherichia coli* isolées et identifiées à partir des prélèvements biologiques d'urine et du pus pour tester la résistance bactérienne aux antibiotiques. Nous avons recueilli 145 prélèvements où les prélèvements urinaires sont de 80,68% et les prélèvements de pus sont de 19,32%. 47 souches d'*E. coli* ont été isolées et identifiées, pédiatrie et médecine femme occupent la première place avec 44,68% et 27,65% des isolats. L'étude de la sensibilité de 47 souches vis-à-vis de 11 antibiotiques de différentes familles a montré que nos souches étaient résistantes aux antibiotiques de la famille des β -lactamines et sensible à tous les aminosides testés. Les femmes et les nouveaux nés sont les plus touchés par les infections urinaire de *E. coli*, cela peut être expliqué par le fait que chez les femmes le diamètre de l'urètre est plus court ce qui donne aux germes la capacité de remonté le long de l'urètre vers la vessie et de proliférer dans les urine. D'une autre part on trouve le système immunitaire immature est la principale cause d'infection chez les nouveaux nés.

Mots clés : Infection urinaire, ATB, Résistance, *E. coli*.

Abstract

We conducted a study that focuses on patients from different departments of Lakhria Hospital during the internship period which is from March 5 to May 5 2019. This study focused on strains of *Escherichia coli* isolated and identified from biological samples of urine and pus to test bacterial resistance to antibiotics. We collected 145 samples where the urine samples are 80,68% and the samples of pus are 19,32%. 47 strains of *E. coli* were isolated and identified, pediatrics and medicine women occupy the first place with 44,68% and 27,65% isolates. The study of the susceptibility of 47 strains against 11 antibiotics from different families showed that our strains were resistant to antibiotics of the β -lactam family and sensitive to all the aminoglycosides tested. Women and newborns are the most affected by urinary *E. coli* infections, this can be explained by the fact that in women the diameter of the urethra is shorter which gives germs the ability to come up along from the urethra to the bladder and proliferate in the urine. On the other hand we find the immature immune system is the main cause of infection in newborns.

Key words: *E.coli*, urinary infections, ATB, Resistance.

ملخص

لقد أجرينا دراسة تركز على مرضى من أقسام مختلفة في مستشفى الأخصرية خلال الفترة الممتدة من 5 مارس إلى 5 ماي 2019. ركزت هذه الدراسة على سلالات من الإشريشيا القولونية المعزولة والتي تم تحديدها من عينات بيولوجية من البول و القيح لاختبار المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية. جمعنا 145 عينة حيث نسبة عينات البول ، 80,68% وعينات القيح هي ، 19,32%. 47 من سلالات الإشريشيا القولونية تم عزلها وتحديدها ، حيث احتل قسم طب الأطفال وطب النساء المرتبة الأولى بنسبة 44,68% و 27,65% من العزلات. أظهرت دراسة مدى حساسية 47 سلالة ضد 11 من المضادات الحيوية من عائلات مختلفة أن سلالاتنا كانت مقاومة للمضادات الحيوية لعائلة البيطالاکتامين وحساسية لجميع الأمينوغليكوزيداز المختبرة. النساء والأطفال حديثي الولادة هم الأكثر تضررا من التهابات المسالك البولية، ويمكن تفسير ذلك بحقيقة أن قطر مجرى البول أقصر مما يعطي الجراثيم القدرة على الخروج من مجرى البول إلى المثانة وتكاثر في البول. من ناحية أخرى نجد أن الجهاز المناعي غير الناضج هو السبب الرئيسي للعدوى لدى الأطفال.

الكلمات المفتاحية : الإشريشيا القولونية، التهابات المسالك البولية، المضادات الحيوية، مقاومة.